

В МИРЕ НАУКИ И ТЕХНИКИ

НТ

Р. ЗЮСС
В. КИНЦЕЛЬ
Д. Ж. Д. СКРИБНЕР

РАК: ЭКСПЕРИМЕНТЫ И ГИПОТЕЗЫ





CANCER EXPERIMENTS AND CONCEPTS

R. SÜSS

V. KINZEL

J. D. SCRIBNER

Translated from the German

by J. D. SCRIBNER

H. E. BAADER, Artist

SPRINGER - VERLAG

NEW YORK - HEIDELBERG - BERLIN

1973

Р. ЗЮСС, В. КИНЦЕЛЬ, ДЖ. Д. СКРИБНЕР

РАК:

ЭКСПЕРИМЕНТЫ И ГИПОТЕЗЫ

Перевод с английского
канд. биол. наук И. Б. Бухвалова

Под редакцией и с послесловием
д-ра мед. наук проф. Ю. Я. Грицмана

Зюсс Р., Кинцель В., Скрибнер Дж. Д.

3 98 **Рак: эксперименты и гипотезы.** Пер. с англ. И. Б. Бухвалова. Ред. и послесл. Ю. Я. Грицмана. М., «Мир», 1977.
360 с. с илл. (В мире науки и техники)

Что такое рак? Как распознать опухолевую клетку? Какой теории отдать предпочтение — вирусной, иммунологической или мутационной? На эти и множество других вопросов отвечают авторы книги «Рак: эксперименты и гипотезы».

Видные западные онкологи на основе огромного фактического материала знакомят читателя с новейшими экспериментальными исследованиями в области рака и различными теориями канцерогенеза.

Книга превосходно иллюстрирована цветными рисунками, снабжена толковым словарем. Она бесспорно заинтересует не только медиков и биологов, но и всех тех, кто хотел бы больше узнать о «болезни века»

3 $\frac{51300-198}{041(01)-77}$ 198—76 617.3

*Редакция научно-популярной
и научно-фантастической литературы*

© 1973 by Springer-Verlag New York Inc.

All Rights Reserved
Authorized translation from English
language edition published by Springer-Verlag
Berlin – Heidelberg – New York

© Перевод на русский язык, «Мир», 1977

Предисловие

Предлагаемую вашему вниманию книгу вполне можно читать на досуге для пополнения знаний.

Нет нужды доказывать, что рак — серьезнейшая болезнь и связанные с ним проблемы имеют жизненно важное значение для человека, а исследования рака — это прежде всего часть медицинской науки, основанной еще Гиппократом. Но вместе с тем исследования рака — это и раздел естествознания с присущими науке радостями и огорчениями. Проблема рака дает повод для азарта мыслителю и бросает вызов любопытствующему.

Эта книга представляет собой введение в онкологию и предназначена для любознательных студентов различных специальностей: разумеется, прежде всего для медиков, но также и для химиков и физиков, интересующихся биологическими явлениями. Что же касается биологов, то среди медицинских проблем они смогут усмотреть особенности биологического порядка.

Мы писали эту книгу не с расчетом на специалиста, обладающего особой подготовкой: для химика затруднительно разобраться в медицине, а врач имеет порой лишь смутное представление о химических проблемах, играющих важную роль в исследованиях опухолей. В нашу задачу не входило намерение дать исчерпывающий обзор всего комплекса сведений по онкологии, поэтому из множества направлений, в которых происходит развитие этой науки, мы выбрали лишь некоторые. На химиотерапии, например, а также на опухолевых РНК-вирусах мы остановимся довольно бегло, хотя вполне возможно, что именно эти проблемы особенно важны при изучении опухолей человека. О возникновении опухолей в результате радиации будет сказано вскользь, несмотря на огромное практическое значение этой проблемы. Аналогичным образом роль гормонов в книге будет намечена лишь штрихами. Нетерпеливый

читатель может читать отдельные главы вразбивку, а читатель более внимательный заметит, что по этим причинам мы не всегда избегали повторений.

Для тех же, кто при чтении этой книги ощутит недостаток знаний специальной терминологии, мы в приложении помещаем морфологический толковый словарь, цель которого — облегчить понимание изложенного материала.

Мы также не имели намерения создать учебник, снабженный обширным списком справочной литературы, по той простой причине, что онкология еще не стала выпускной специальностью для студентов-медиков в ФРГ, как, впрочем, и в Соединенных Штатах Америки (авторам известен только один случай).. Вот почему нами руководило желание не создать чудовищно запутанную справочную книгу, а привлечь внимание студентов, завершающих образование по другим специальностям. Мы, насколько это было возможно, стремились цитировать оригинальную литературу с упоминанием имен авторов. Что же касается подробностей по изложенному в книге материалу, то их можно найти в обзорах, а также в других работах, носящих более специальный характер.

За прочтение книги и за критический разбор отдельных разделов мы приносим свою благодарность Г. Леттре, Е. Геккеру, Д. Шмелю, Ф. Далленбаху и К. Гёрттлеру (Гейдельберг); Х. Фридрих-Фрекса, Х. Уелеке и Х. Бауэру (Тюбинген); Ф. Андерсу (Гиссен) и В.Р.Поттеру (Мэдисон). Мы признательны также за плодотворные дискуссии нашим коллегам — Г. Крайбиху, М. Трауту, Х. Фишеру, Ф. Марксу, Р. Целлю, взявшим на себя труд просмотреть всю рукопись. Мы благодарны Союзу для прогресса исследований в области рака в ФРГ (проф. К.Х. Бауэр) за помощь в подготовке иллюстраций.

Гейдельберг, сентябрь 1970

*Р. Зюсс
В. Кинцель
Дж. Д. Скрибнер*

Сокращения и часто употребляемые термины

- А** — аденин;
ААФ — ацетиламинофлуорен;
АБ — аминоазобензол;
АТФ — аденозинтрифосфат;
БП — бензпирен;
Ц — цитозин;
Д — общая доза
д — дневная (или разовая) доза;
ДАБ — диметиламиноазобензол;
ДБА — дибензантрацен;
ДЭНА — диэтилнитрозамин;
ДМБА — диметилбензантрацен;
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота;
Г — гуанин;
МХ — метилхолантрен;
НАД — никотинамидадениндинуклеотид (ранее ДПН);
НАДН — восстановленный НАД (ранее ДПНН);
РНК — рибонуклеиновая кислота;
иРНК — информационная РНК;
S-фаза — фаза клеточного цикла, в которой синтезируется ДНК;
SV-40 — симианский вакуолизирующий вирус;
Т — тимин.

Ниже приводятся основные термины и дается их объяснение; кроме того, многие понятия разъясняются в тексте, а места, где они упомянуты, указаны в предметном указателе.

антиканцерогенный — подавляющий индуцирование рака;
антиген — специфический чужеродный агент, способный вызывать иммунный ответ;

антитело — специфический защитный белок, который вырабатывается в ответ на антиген;

канцерогенез — индуцирование (вызывание) рака;

канцерогенный — вызывающий рак;

коканцерогенный — способствующий индуцированию рака (см. опухоли — развитие латентных опухолевых клеток, стр.74—86);

лизис — разрушение клетки, возможно, в результате внешнего повреждения или вирусной инфекции;

литический (цитолитический) — ведущий к лизису;

неоплазма — «новообразование», относится как к злокачественным, так и к доброкачественным опухолям;

неопластическая трансформация — процесс, ведущий к превращению нормальной клетки в опухолевую;

онкогенный (канцерогенный) — обычно относится к вирусам, которые вызывают рак («онкогенные вирусы»);

синканцерогенный — канцерогенные стимулы, действующие вместе;

токсический — грубо говоря, «ядовитый» (в отличие от «специфических» канцерогенных воздействий);

цитопатический — повреждающий клетки;

цитотоксический — ведущий к повреждению клетки и ее смерти.

Онкологические исследования как часть естествознания

Экспериментальные исследования злокачественных опухолей — современная, включающая в себя множество подразделов наука в подлинном смысле этого слова. На ее поприще плечом к плечу трудятся патологи, биохимики, радиофизики, вирусологи, токсикологи, химики, занимающиеся изучением природных веществ,— всех их интересует, что же представляет собой раковая клетка, как она возникает и как с ней бороться. Помимо патологоанатомической диагностической классификации опухолей, сегодня стало возможным построение теоретических моделей с применением методов молекулярной биологии. Утонченные биохимические методы сейчас дополняют скальпель и рентгеновское излучение. Необходимость взаимодействия наук в исследованиях рака очевидна, однако исследователям все еще в значительной мере не хватает общего языка.

Вплоть до самого недавнего времени нужды и надежды практической медицины были преобладающими; естественно, что предотвращение злокачественных опухолей и борьба с ними продолжают и по сей день оставаться важнейшим стимулом для научных исследований. Однако за последние несколько лет возникла новая дисциплина — канцерология, или экспериментальная онкология,— биологическая наука, которая занимается фундаментальными исследованиями и не преследует цель немедленно внедрить результаты в практику.

Онкология как наука не пытается в первую очередь «разрешить проблему рака», а стремится приблизиться к биологическим проблемам путем изучения опухолей. В центре внимания онкологических исследований по-прежнему находятся проблемы клеточной дифференцировки и регуляции роста, ибо только выяснение того, каким образом раковой клетке удастся ускользнуть из-под контроля регуляции роста в высшем организме, способно приблизить

нас к пониманию природы регуляции роста клеток вообще.

Однако регуляция роста не является единственным объектом таких исследований; несколько лет назад В. Р. Поттер [32] охарактеризовал серию опухолей печени с различной степенью дифференцировки как «печеночные мутанты». Исследования такого рода способствуют также изучению функции нормальной печени. Норму, как ни парадоксально, легче оценить, изучая патологию.

Специалисты по генетике бактерий поняли это давно: исследование бактериальных мутантов дало толчок к развитию современной молекулярной биологии. Возможно, в не столь отдаленном будущем и раковая клетка сыграет сходную роль в развитии общей биологии. Классическая молекулярная биология уже миновала апогей; ее «героический период», как образно выразился Стент, миновал: сегодня она пытается преодолеть разрыв между одноклеточными и многоклеточными организмами, и здесь изучение патологии раковой клетки может оказать неоценимую помощь в понимании нормальных взаимоотношений между клеткой и тканью.

Вплоть до последнего времени онкологические эксперименты следовали за экспериментами в общей биологии. Те же опыты просто повторялись на опухолевом материале, а современные методы и представления механически приспособлялись к старым системам. Структура онкологии представляется нам крайне беспорядочной: множество конструкций было возведено одновременно, и никто не знал, какую из них придется достраивать в первую очередь. По многим дисциплинам работы велись изолированно, причем подчас ученые, работающие в одной области, не имели понятия о том, что делается в другой. Однако именно этот незаконченный характер, отсутствие строгой системы и привлекает внимание исследователей, возбуждает их любознательность.

Дж. Гринштейн, автор книги «Биохимия рака», пессимистически замечает: «По каким-то непонятным причинам исследования в области рака стали кладбищем для многих научных репутаций». Это объясняется только тем, что онкологические исследования принято было рассматривать как конечную проблему, как своеобразный вызов ученым, уже преуспевшим в других областях. Такое отношение выразилось в постановке трудных задач, опережающих свое

время, причем все это подстегивалось нетерпением и сопровождалось необоснованными заверениями в успехе.

Современная биология вооружила нас новыми методами, и это позволяет вновь начать атаку на старую проблему. Оптимисты склонны рассматривать будущее онкологических исследований в тесной связи с развитием методов новейшей биологической науки.

Экспериментальные исследования рака: биология регуляции роста

Изо дня в день орел вырывал у прикованного к скале Прометея кусок печени, но всякий раз Прометей оставался в живых после чудовищных истязаний. Этот древний миф не так далек от истины: если удалить часть печени (так называемая частичная гепатэктомия), то оставшаяся часть печени восстанавливает свои размеры в течение нескольких дней. У крыс такая операция протекает успешно, даже если удалить более двух третей печени, причем удаление может быть произведено неоднократно на одном и том же животном. И печень всегда регенерирует до своего изначального размера. Но каждый раз регенерация останавливается на определенной черте, «невидимые границы» останавливают рост, и, как гласит немецкая пословица, деревья не вырастают до неба.

Продолжительность жизни эритроцита — всего 120 дней (у человека); за этот период сменяется целое поколение красных кровяных клеток. При объеме крови 4—6 л и количестве эритроцитов $5 \cdot 10^6$ в 1 мм^3 это соответствует продуцированию $6 \cdot 10^{13}$ — $9 \cdot 10^{13}$ красных клеток крови в год. Точно такое же количество клеток разрушается за этот период, и общее число эритроцитов (без учета незначительных отклонений) остается постоянным.

Рассмотрим это же явление на примере кожи. В течение 4—10 дней все клетки эпителия кожи обновляются: более 1% всей клеточной популяции «базального слоя» постоянно находится в состоянии деления. Однако в отсутствие стимула эта клеточная популяция также остается постоянной — прирост компенсируется равной ему потерей клеток. Постоянство ткани как бы устанавливается при помощи тончайшего микрометра.

«Все живое стремится расти и размножаться до бесконечности, — писал Сент-Дьёрди, — но, когда клетки участвуют в совместном создании сложного организма, их рост

должен регулироваться с учетом интересов целого». Существование высшего организма возможно лишь при условии подавления роста. Причем условие это должно соблюдаться неуклонно, ибо клетка млекопитающих — за незначительными исключениями — может также делиться каждые 24 ч. Даже малейшая свобода может быть фатальной. Так, если воспроизводство эпителиальных клеток, выстилающих пищеварительный тракт, возрастает лишь на несколько процентов, система в кратчайшее время блокируется. Следовательно, воспроизводство и отторжение клеток должны быть тончайшим образом согласованы.

Однако в опухоли такая согласованность нарушается; ее клетки более не отвечают на сигналы регуляции роста. Они как бы глухи. Логически возможен и другой вариант: больным может быть сам организм, в то время как отдельные его клетки остаются здоровыми. При этом не обязательно клеткам быть «глухими», если регуляторные сигналы ослабевают или вовсе отсутствуют. Таким образом, помимо проблемы индивидуальной этики, рак, очевидно, затрагивает и проблему этики общественной — проблему регулирования общественной жизни¹.

Высокоорганизованный организм представляет собой экологическую систему в миниатюре; малейшие изменения в любой точке могут повлиять на систему в целом. Эколог сталкивается с проблемой «популяционного взрыва» при исключении хищника из экосистемы. В этом смысле рак также можно уподобить экологической проблеме.

Итак, онкологические исследования направлены на изучение как отдельной опухолевой клетки, так и регуляторных систем организма; и хотя изучению подлежит автономная раковая клетка, не следует забывать об организме хозяина

¹Авторы имеют в виду не социальные аспекты человеческого общества, а проблему общности клеток в целостном организме. — *Прим. ред.*

Импульс для экспериментальных исследований рака

Рак — проблема здравоохранения первостепенного значения, особенно в наши дни: если в 1900 г. в Германии из каждых 30 умерших один погибал от рака, то сегодня в ФРГ рак является причиной смерти в одном случае из пяти. Лишь сердечно-сосудистые заболевания уносят больше жизней, но смертность от рака продолжает увеличиваться. Лестница смертности от рака, по-видимому, имеет тенденцию стать выше (фиг. 1). Как полагают, в скором времени рак может стать главной причиной смерти людей.

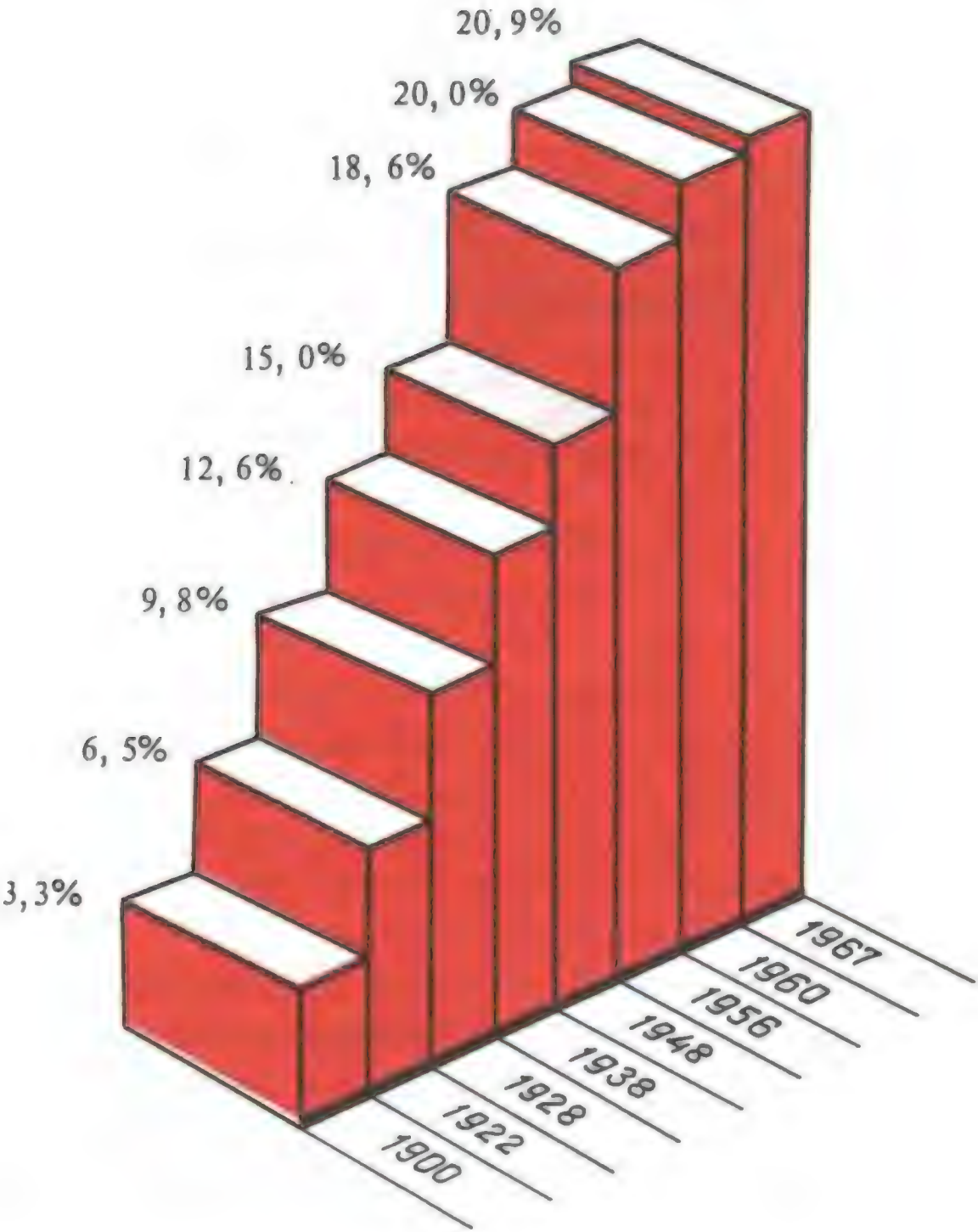
Разумеется, при рассмотрении статистики смертности следует проявлять осторожность: улучшение диагностики может привести к кажущемуся возрастанию заболеваемости раком. Вполне вероятно, что сегодня рак распознается во многих таких случаях, которые раньше приписывались старости. Ошибки в диагнозе, поставленном патологоанатомами по результатам вскрытия, очень редки, но и здесь имеются впечатляющие подтверждения того, что рак встречается все чаще. Ниже приводится число случаев рака легкого, диагностированного в Гейдельбергском патологоанатомическом отделении более чем за сто лет.

Период	Число случаев
1841—1875	2
1876—1900	14
1901—1925	48
1926—1950	289
1951—1963	589

Правда, рак легкого — особый случай. Но хотя заболеваемость не всеми формами рака возрастает столь быстро (некоторыми, например раком желудка, даже снижается), в целом заболеваемость раком продолжает расти. На фиг 2 отражена смертность от рака в США за период 1900—1960 гг. (сведения почерпнуты из так называемого «Доклада Терри»).

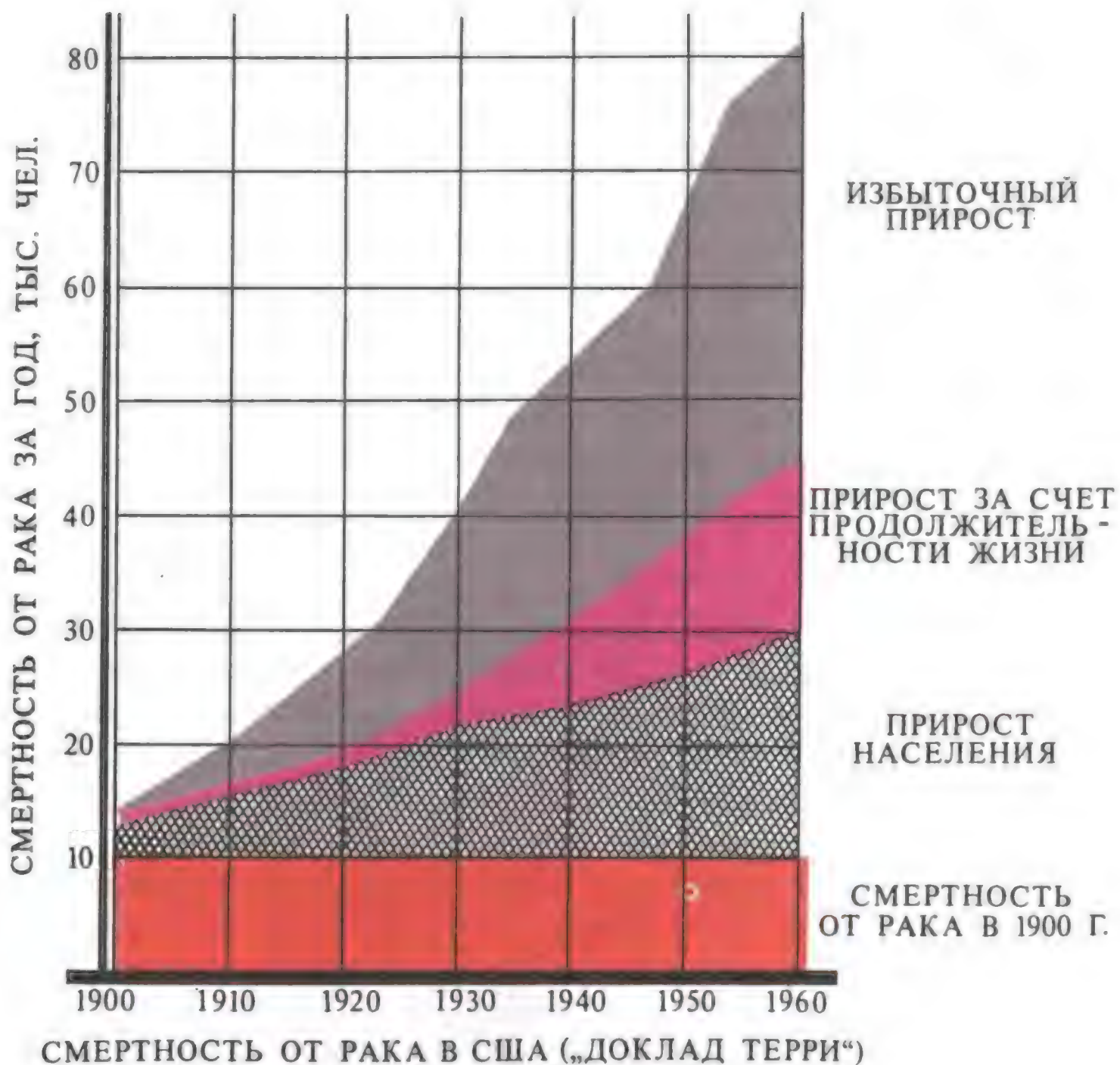
За рассматриваемые 60 лет население страны более чем удвоилось. Логично было бы ожидать удвоения смертности от рака, но она составляет лишь незначительную долю общего увеличения смертности. Для оставшейся части следует искать иные объяснения.

К 1960 г. стало не только больше американцев, чем в 1900 г., стало также больше старых людей. Если в 1900 г. только 7% населения было старше 60 лет, то к 1950 г. эта цифра возросла до 14%. Поскольку рак является болезнью пожилого возраста (за некоторыми исключениями), очевидно, что, чем больше пожилых людей, тем больше и случаев рака. Но даже этот «естественный фактор» не



ЛЕСТНИЦА РАКА: ВОЗРАСТАНИЕ СМЕРТНОСТИ ОТ РАКА

Ф и г. 1.



Ф и г. 2.

позволяет понять, почему в 1960 г. смертность от рака была выше, чем можно было бы объяснить ростом населения и изменениями его возрастного состава. Этот «избыток» ведет к невеселому выводу: по словам Бауэра, «заболеваемость раком растет просто потому, что усиливаются факторы, которые его вызывают».

Значительная часть нашей книги посвящена подробному обсуждению этих факторов, причем упор делается на экспериментальные исследования рака: ведь благодаря им сегодня появилась возможность идентифицировать целый ряд упомянутых факторов. Но почти в каждом случае клубок начал разматываться в результате наблюдений над заболеванием человека. Поэтому в поисках ответа на вопрос, почему же все больше и больше людей становятся жертвами рака, нам следует обратиться к клинической практике.

«Желчная теория»

Желчные женщины склонны к заболеванию раком, учил Гален, и это было для него достаточным объяснением. Гиппократ, как и Гален, усматривал основу устойчивости здоровья в гармоничном смешении четырех жидкостей тела (крови, слизи, а также желтой и черной желчи). Нарушение равновесия жидкостей ведет к болезни, особенно тяжелой, когда преобладает черная желчь (по-гречески «мелас холе»). Она считалась причиной наиболее серьезных болезней, в том числе рака. Чем большей едкостью обладает черная желчь, тем смертоноснее ее действие.

1600 лет спустя Жан Аструк (1684—1766), врач из Монпелье, подверг теорию Галена экспериментальной проверке: он сжег кусок опухоли молочной железы и кусок обыкновенного бифштекса и сравнил вкус оставшейся золы. Он не смог выявить никакого особо «едкого» вкуса золы раковой опухоли, и это привело его к отказу от так называемой «желчной теории» (*melancholia carcinogenica*) возникновения рака.

Однако эта теория не была предана забвению. В 1844 г. Ригони Стерн отметил, что среди замужних женщин рак шейки матки чаще встречается у чувствительных и склонных к подавленному настроению особ. А в 1964 г. Д. Киссен написал, что «по имеющимся данным, на развитие рака влияет не только сам факт курения сигарет, но и особенности характера курильщика». Он провел психологические беседы почти с 900 пациентами, страдавшими легочными заболеваниями. В ходе собеседования ни Киссен, ни его пациенты еще не знали диагноза. Позднее выяснилось, что примерно половина всех пациентов была больна раком. Сравнивая пациентов, больных раком легкого, и пациентов, страдающих иными заболеваниями, Киссен отметил, что для раковых больных характерна «недостаточная эмоциональная разрядка». Имеются и другие сообщения, подтверждающие приведенные результаты, хотя получены они иными методами и описаны в других терминах. Однако никто еще не осмелился заявить, что особенности характера являются достаточным основанием для возникновения рака легкого, а курение — просто «индикатор» особой психической конституции, никто ... кроме представителей табачной промышленности. И все же дискуссии вокруг психофизических взаимодействий продолжаются.

Даже эксперименты на животных вписываются в эту картину: И. П. Павлов и его сотрудники сообщали, что у собак, подвергнутых продолжительному экспериментальному неврозу, развивались спонтанные злокачественные опухоли внутренних органов.

В этой связи заслуживают интереса данные обследования, проведенного Берксоном. По Берксону, женатые, холостые и разведенные мужчины имеют разную степень риска умереть от рака легкого: разведенные мужчины умирают вдвое чаще, чем женатые, холостяки же находятся где-то посредине.

В общем «желчная теория» не забыта. Однако трудность оценки психосоматических факторов осталась. Роль химических веществ в развитии опухолей у человека вызывает гораздо меньше споров. Чаще всего этот вопрос рассматривается в связи с обсуждением роли курения сигарет в развитии рака.

Курение сигарет и рак легкого

«Не будет преувеличением сказать, что рак легкого в наши дни является величайшим онкологическим экспериментом в истории человечества». Эти слова, принадлежащие К. Х. Бауэру, подкрепляются убедительными данными. Так, в США свыше миллиона человек находились под наблюдением на протяжении восьми с лишним лет. Как оказалось, смертность от рака легкого среди курильщиков в десять раз выше, чем среди некурящих. Что же касается особо заядлых курильщиков, то у них дело обстоит еще хуже: те, кто выкуривал две пачки сигарет в день, имели в 24 раза больше шансов заболеть, чем некурящие (по Кану). Обследование, проведенное в Англии, дало сходные результаты: те, кто выкуривал 25 или более сигарет в день, умирали от рака легкого в 20 раз чаще, чем некурящие (по сообщению Долла и Хилла).

Эти и многие другие данные заставили одного эпидемиолога сказать: «Только невежеством и предвзятостью можно объяснить отрицание реальной связи между курением и заболеванием раком легкого» (Флетчер). Однако здесь все же имеются некоторые озадачивающие факты.

Установлено, что у собак и кошек также растет смертность от рака легкого. По-видимому, наиболее вероятным объяснением этого роста является постоянно усили-

вающееся загрязнение воздуха. Если же загрязнение воздуха действительно способствует возникновению рака легкого, то следует ожидать, что смертность от этого заболевания в городах выше по сравнению с сельской местностью. В самом деле, по статистическим данным США, Англии и Швеции, заболеваемость раком легкого в городах в два-три раза выше.

Повседневные канцерогены

Все наше окружение загрязнено веществами, вызывающими рак. Мы прикасаемся к ним, едим их, дышим ими. Раньше с канцерогенными веществами контактировали лишь ограниченные профессиональные группы населения:

трубочисты в Англии (сажа из узких дымоходов);
рабочие, занятые на производстве анилиновых красок (нафтиламин в прежних фабриках красок);
шахтеры медных и урановых шахт (радиационные повреждения, а также канцерогенное воздействие пыли некоторых металлов);
рабочие асбестовых предприятий.

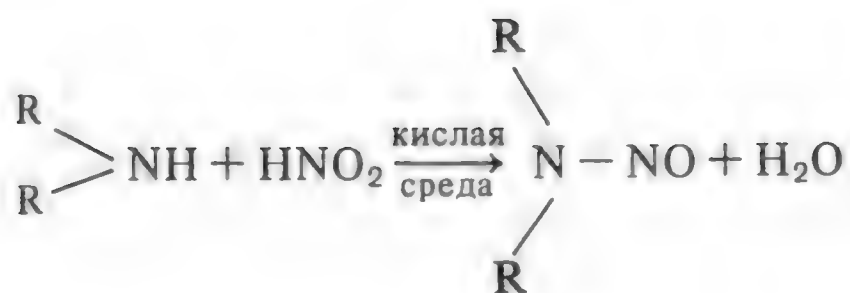
Теперь же канцерогенные агенты представляют опасность для всего населения в глобальном масштабе. Узкие дымоходы перестали быть единственными «поставщиками» канцерогенных углеводородов. 3,4-Бензпирен, хорошо известный представитель этого класса соединений, обнаружен в воздухе больших городов в концентрации 600 мкг/1000 мм³. Его концентрация в воздухе постоянно увеличивается за счет дыма из труб и выхлопных газов автомобилей.

Из этого следует, что бензпирен следует искать и в нашей пище: уровень концентрации, превышающий 25 мкг/кг, был найден в овощах. Кулинарные жиры и растительные масла содержат 5—20 мкг/кг этого вещества. Не должно вызывать удивления, что бензпирен обнаруживается и в копченых продуктах и даже в жареном мясе. Лижински и Шубик обнаружили 5—50 мкг/кг бензпирена на поверхности бифштексов, поджаренных на углях. Это позволило им сделать вывод, что полициклические углеводороды образуются в результате расщепления жира, стекающего на горячие угли. Этим объясняется, почему бензпирен не обнаруживается в бифштексах, приготовленных в ду-

ховке. Приведенный пример иллюстрирует также проблему соотношения затрат и доходов, с которой сталкивается каждый фабрикант пищевых приправ, пестицидов или лекарств. Американцу, живущему в пригороде, предоставляется возможность жарить бифштексы без опасения, что образуется бензпирен, но при этом он лишится удивительного аромата, которым обладает поджаренное на углях мясо.

Появляются и новые опасности: мы не только поглощаем «свежеиспеченные» канцерогены, но, возможно, способны производить их в нашем организме из безвредных предшественников. К такому заключению недавно привели исследования нитрозаминов — класса соединений, которые уже свыше десяти лет привлекают внимание химиков и онкологов.

Нитрозамины очень легко синтезируются при простом смешивании вторичных аминов с азотистой кислотой в кислой среде (азотистая кислота является кислотным компонентом нитритов):



В простейшем случае при реакции диметиламина с азотистой кислотой получается диметилнитрозамин — желтоватая жидкость с ароматным запахом. В химической промышленности предполагалось использовать ее в качестве растворителя, но от этой мысли пришлось отказаться, так как выяснилось, что диметилнитрозамин токсичен для печени и даже вызывает рак этого органа (Мейджи).

Это сообщение заинтересовало онкологов; они синтезировали серию нитрозаминов и изучили их канцерогенную активность. Оказалось, что многие из исследованных соединений являются такими же сильными канцерогенами, как и диметилнитрозамин, а некоторые поражали органы и ткани, ранее неуязвимые для других канцерогенов. Такая удивительная многосторонность побудила ученых подвергнуть новые канцерогены самому тщательному изучению (Друкри, Происсманн). Однако это не было единственной целью исследований. Проводились также полевые испытания, чтобы установить, не являются ли нитроамины частью нашего химического окружения. Последнее не дол-

жно казаться удивительным: нитрозамины все еще используются в химической промышленности в качестве промежуточных продуктов (в частности, диметилнитрозамин применяют при изготовлении диметилгидразина — компонента ракетного топлива).

К счастью, как показали предварительные результаты, нитрозамины содержатся в пищевых продуктах в крайне незначительных концентрациях. Но позже эти вещества снова вышли на сцену, и вот тут обнаружилась довольно мрачная картина.

Поскольку нитрозамины легко синтезируются в лабораторных условиях, ученые задумались над вопросом: не могут ли они с такой же легкостью образовываться в организме животного? Важной предпосылкой образования нитрозаминов из аминов и нитритов является кислая среда. Не означает ли это, что желудок животного — превосходный реакционный сосуд? После первых безуспешных попыток ряд исследователей (Зандер, Гринблат, Мирвиш) вызвали рак у животных, скармливая им амины вместе с нитритами.

Таким образом, не исключено, что, съедая «безвредные» нитриты (их много в сосисках и некоторых видах консервированного мяса) вместе с вторичными аминами, которые могут содержаться в нашей пище, мы сами синтезируем канцерогены в ощутимых количествах. (Кроме того, превращению нитратов в нитриты способствует деятельность некоторых бактерий, «населяющих» наш кишечный тракт.) Особое внимание ученые уделили некоторым лекарствам, содержащим амины, которые могут быть превращены в нитрозамины. Отрезвляющим примером служит пиперазин, используемый для борьбы с глистными инвазиями.

Специалист-химик может точно предсказать, с какой легкостью нитрозамин будет синтезирован из предшественников (Мирвиш), но он не может знать *a priori* степень опасности данной комбинации для животного. В настоящее время начаты разработки эффективных программ, позволяющих выяснить, насколько велика истинная опасность.

Мор индюшек и история с афлатоксином

В 1960 г. от острого некроза печени в Англии погибло свыше 100 000 индюшат. Удалось быстро обнаружить, что корни таинственного заболевания птиц следует искать в

питании: как оказалось, идущие им в корм земляные орехи, импортируемые из Бразилии и Африки, были поражены плесенью. Эта ядовитая плесень была идентифицирована как *Aspergillus flavus*. Продуцируемые плесенью токсины были изолированы и очищены. Они получили название афлатоксинов. Афлатоксины очень ядовиты (1 мг/кг достаточно, чтобы убить собаку, молодую крысу или индюшку).

Но афлатоксин не просто токсичен; выяснилось, что если крыс кормить заплесневелыми земляными орехами, то у них развивается гепатома (рак печени). Люди, как правило, не употребляют в пищу покрытые плесенью земляные орехи, но *Aspergillus flavus* может расти на различных продуктах. Афлатоксины иногда обнаруживают и на булках, в заплесневелой муке и покрытом плесенью картофеле и даже в вине. Правда, мягкие сорта сыра с плесенью (камамбер, рокфор, горгонзола) не вызывают подозрений. Видимо, культура плесени, добавляемая к сыру в процессе его созревания (например, *Penicillium roqueforti*), защищает сыр от инфицирования опасным *Aspergillus flavus*.

Афлатоксины, по-видимому, повинны в высоком уровне заболеваемости первичной карциномой печени среди населения некоторых частей Африки. Прежде считали, что болезнь вызывается бедной белком пищей, а также некоторыми алкалоидами растений из семейства *Senecio*. Но теперь выяснилось, что в условиях влажного тропического климата *Aspergillus flavus* иногда обильно прорастает на различных зерновых во время их хранения.

В США и Европе причину рака следует искать не в испорченных продуктах. Однако, по иронии судьбы, меры, которые мы принимаем для защиты наших пищевых запасов, повышают риск заболеть раком. Так, тиацетамид, добавляемый к пищевым продуктам в качестве фунгицида, вызывает рак печени у крыс. Но, пожалуй, наиболее гротескный пример являет собой использование инсектицидов.

Пестициды или гуманициды

Пестициды уже давно причиняют вред не только насекомым. Что же касается ДДТ, то его, безусловно, можно причислить к разряду инсектицидов, вышедших из-под кон-

троля человека. Получив распространение во всем мире, он сконцентрировался в пищевой цепи планктон — рыба — человек и, что самое страшное, откладывается на длительные периоды времени в жировой ткани. Более того, каждая новая доза ДДТ добавляется к общей, полученной ранее. По этому поводу Тейлор [40] саркастически заметил: «Американцы не годятся более в пищу человеку, ибо в их жировой ткани содержится свыше 0,00001‰ ДДТ, то есть вдвое больше, чем позволяют законы о пищевых продуктах. По тем же соображениям не удовлетворяет государственным стандартам и молоко американских матерей (разве что в естественной упаковке)».

В опытах с животными ДДТ не проявил себя как особо сильный агент, но его, безусловно, следует причислить к канцерогенам. А теперь завершим краткий перечень случаев загрязнения окружающей нас среды еще одним довольно свежим примером.

Асбест и рак легкого

Асбест стал важным сырьевым материалом в современной технике. Благодаря хорошим изоляционным свойствам его используют в качестве электроизолятора, а также для выстилки полов, при изготовлении прокладок тормозов и трансмиссий автомобилей. В больших сооружениях асбест наносят на необработанную внешнюю поверхность путем распыления под высоким давлением. За последние 60 лет мировое потребление асбеста возросло с 30 тыс. до 4 млн. т.

У людей, работающих с асбестом, асбестоз описан давно: рентгеноскопия обнаруживает характерные изменения в пораженных легких. Асбестоз признан профессиональным заболеванием, но он не является единственным следствием продолжительного контактирования с асбестом. Как показал Долл, англичане, работающие на производстве асбеста свыше 20 лет, поражаются раком легкого в 11 раз чаще, чем все остальное население.

Асбестоз, развивающийся под влиянием голубого асбеста, вызывает особый тип злокачественной опухоли, ранее редко встречавшейся. Речь идет о так называемой мезотелиоме, при которой поражаются как плевра, так и брюшина. «Асбестовые тельца» часто обнаруживаются в легких людей, работающих с асбестом; они являются результатом

инкапсуляции асбестовых волокон желто-коричневым веществом. Однако в последнее время мезотелиомы и асбестовые тельца обнаруживаются у людей, никогда не работавших с асбестом.

Значит ли это, что рак, вызванный асбестом, является не только профессиональным заболеванием? Трудно сказать, насколько увеличилась опасность для всего населения, однако, по-видимому, весьма весомый «вклад» в проблему вносит большое число срабатывающихся тормозных прокладок. Как предсказывает Томпсон, специалист по проблеме асбеста, рак легкого, вызываемый асбестом, может очень скоро обогнать рак легкого, вызываемый курением.

«Моральные устои»¹ и рак половых органов

Среди негритянок, жительниц США, рак половых органов (рак шейки матки) встречается чаще, чем среди белых американок. Обследование, проведенное в Нью-Йорке, показывает это вполне четко (заболеваемость на 100 000 тысяч населения):

Еврейки	4,7
Белые женщины других национальностей	17,1
Негритянки	53,6
Пуэрториканки	109,8

Казалось бы, перед нами явная зависимость от расовых различий, но статистика может быть обманчивой. Так, обследование, проведенное в больнице для бедного населения в Луисвилле (штат Кентукки), не выявило различий между черными и белыми больными. Более того, обнаружилось, что заболеваемость раком шейки матки находится в прямой зависимости от социальных причин: в данном случае низкое социальное положение влекло за собой раннюю половую жизнь, ранний брак и частые роды. Это объяснение помогает понять, почему индийские женщины часто страдают раком шейки матки. Крайняя нищета толкает к началу половой активности в ранней юности.

Но вернемся к таблице. Из нее видно, что еврейки, живущие в Нью-Йорке, явно реже болеют раком шейки матки, чем женщины других национальностей. Согласно статистическим данным, в Израиле зарегистрирована самая

¹В данном разделе речь идет не столько о моральных устоях, сколько о социальных условиях существования. — *Прим. ред.*

низкая заболеваемость раком шейки матки в мире. Эпидемиологи рака приписывают это в первую очередь принятому среди мужчин-евреев обычаю обрезания, результатом которого является отсутствие смегмы (смегма — выделения желез на коже головки полового члена). В наше время внимательное изучение описанных в Талмуде правил, регулирующих половую жизнь, позволяет составить целый набор гигиенических предписаний, которые могут способствовать предотвращению рака.

Но не только еврейки находятся на последнем месте по заболеваемости раком половых органов. Примерно такая же картина наблюдается среди монахинь. Сказанное, однако, вовсе не означает, что у них меньше риска заболеть раком вообще, совсем наоборот.

У монахинь большой риск заболеть раком молочной железы

Еще 200 лет назад Рамащини отметил, что в Падуге было больше случаев заболевания раком молочной железы у монахинь, чем у замужних женщин. Это наблюдение позднее получило статистическое подтверждение.

Сумма факторов, способствующих заболеванию раком молочной железы, противоположна сумме факторов, способствующих заболеванию раком половых органов: женщины, заболевшие раком молочной железы, обычно позже вступали в брак и имели меньше детей. В этом отношении они полностью отличались от женщин, заболевших раком половых органов. Для двух рассматриваемых нами типов рака характерна различная зависимость от социального положения: так, рак молочной железы чаще наблюдается у женщин из обеспеченных слоев населения. Возможно, это объясняется тем, что они позже выходили замуж и не часто рожали.

Рак желудка у неимущих

Связь между благосостоянием людей и раком нагляднее всего продемонстрировать на примере рака желудка:

Слои общества	Смертность
Специалисты и зажиточные ремесленники	60
Опытные, но менее обеспеченные ремесленники	100
Чернорабочие и неквалифицированные рабочие	130

Наиболее важной причиной приводимых различий является недостаточное питание, обусловленное материальным положением. Но известную роль играют также вкусовые привычки. Так, по мнению Вайсбургера, пересоленная пища может служить дополнительным фактором, способствующим развитию рака желудка.

До сих пор рак пищеварительного тракта наблюдался особенно часто, а среди жителей ФРГ рак желудка и в наши дни является ведущей локализацией рака. Но все же удельный вес рака желудка среди прочих локализаций во многих странах заметно снижается. Серьезное исключение составляет Япония. У японцев рак желудка встречается гораздо чаще, чем в других странах (в частности, в пять раз чаще, чем у белого населения США), и заболеваемость им вплоть до настоящего времени не снижается. Можно было бы заподозрить в этом расовый фактор, если бы среди японцев, эмигрировавших в США, рак желудка не встречался значительно реже, чем у коренного населения Японии.

И снова лестница заболеваемости раком

Оптимист мог бы предположить, что величина отношения смертности от рака к общей смертности не будет иметь тенденции возрастать со временем с такой же скоростью, как в первой половине текущего столетия: в конце концов, если судить по лестнице, о которой говорилось на стр. 14, нетрудно заметить, что она становится более полой. Однако заключение о том, что влияние канцерогенов пошло на убыль, было бы ошибочным.

В расчетах необходимо учитывать медленно, но неуклонно растущее число случаев излечения от рака. Даже 50 лет назад статистика смертности от рака являлась по существу статистикой заболеваемости. Сегодня же следует проводить четкое различие между смертностью (число смертей от рака) и заболеваемостью (количество случаев заболевания раком). Это различие объясняется успехами лечения, порой просто поразительными: они стали возможными в первую очередь благодаря совершенствованию методики ранней диагностики. Достаточно раннее обнаружение рака молочной железы сегодня позволяет полностью излечить каждые три из четырех заболевших женщин.

В этой связи уже не покажется фантастическим заявле-

ние, что рак шейки матки может отойти в область преданий, если его ранние стадии будут распознаваться достаточно быстро (см. стр. 95).

Заключение и прогноз

Раком болели не только древние египтяне, но даже динозавры, однако лишь в XX в. дело идет к тому, что он может стать основной причиной смерти. В значительной мере это объясняется тем, что теперь повысилась продолжительность жизни и у рака «имеется больше времени».

Но суть не только в том, что на Земле увеличилось число старых людей. Мы живем и более опасной жизнью. Окружающая среда загрязнена канцерогенами, а мы помогаем загрязнять ее еще больше. Статистические исследования проливают свет на связь между внешней средой и возникновением рака (курение и рак легкого, облучение и лейкозы и т.д.).

Экспериментальные исследования опухолей не всегда в состоянии разрешить эту проблему. Конечно, мы можем заставить мышей дышать дымом от сигареты, но фильтрующая система их носовых ходов отличается от таковой у человека, и поэтому полученные результаты вряд ли могут быть перенесены на людей. В экспериментальных исследованиях трудно отрешиться от использования стандартных органов — печени и кожи. Но рак печени вряд ли играет существенную роль в медицине: случаи первичной гепатомы настолько редки, что каждый случай возбуждает интерес патологов. Что касается рака кожи, то он относится к более распространенным болезням, однако из-за высокого уровня излечения не представляет большого интереса для клинических исследований.

Вместе с тем онкологи-экспериментаторы должны работать с тем материалом, который представляет известные удобства: с кожей легко работать и легко проводить наблюдения, а печень снабжает исследователей большим количеством биохимических данных. Вот почему исследования рака немыслимы без изучения опухолей печени и кожи; много важных основополагающих сведений было получено именно на этих двух «простых» органах. В результате экспериментальные исследования рака оказались несколько в стороне от насущных проблем медицины, но вряд ли следует строго судить за это экспериментаторов.

Первый шаг: изучение рака, вызываемого каменноугольной смолой

Выявить истоки науки во многих случаях весьма затруднительно. Это сложно сделать даже при изучении истории экспериментальных исследований рака, однако, по-видимому, следует все же выделить как особую дату 1775 год: именно тогда французский врач Бернар Пейрийе привил собакам опухоли человека и вызвал новые «разрастания». Академия наук и изящных искусств в Лионе наградила исследователя первой премией за участие в конкурсе работ по изучению «причин вируса рака». Однако и усердный врач, и академия пали жертвой заблуждения: разрастания были не истинными опухолями, а лишь гнойниками; воспалительные отеки трудно было отличить от злокачественных опухолей без микроскопа и соответствующей бактериологической техники.

В том же году английский врач Персиваль Потт опубликовал сообщение о раке мошонки у трубочистов. Эти больные еще в детском возрасте вынуждены были лазить по узким дымоходам и очищать их от скопившейся копоти. Потт пришел к выводу, что имеет дело со злокачественными опухолями, и, таким образом, был первым, кто поставил диагноз рака как профессионального заболевания. Более того, он документально доказал, что рак может быть вызван внешним воздействием. «Причинным агентом» в изученном им случае, по-видимому, была сажа, то есть мельчайшие частички угольной пыли, слипающиеся благодаря каменноугольной смоле.

Через 100 лет после Потта немецкий врач Фолькманн обнаружил, что каменноугольная смола и сама по себе способна вызывать рак. Обследуя рабочих, занятых на производстве смолы, он установил, что рак возникал главным образом на коже кистей рук и предплечий. Но на протяжении почти полутора веков после Потта никому не удалось вызвать рак у животных. И лишь в 1915 г.

японские ученые Ямагива и Ишикава сообщили о том, что индуцировали настоящие опухоли, нанося каменноугольную смолу на кожу ушей кролика. И хотя критики и завистники считают это сообщение лишь дальнейшим подтверждением хорошо известного факта, по существу японские ученые сделали первый шаг в экспериментальных исследованиях злокачественных опухолей.

Экспериментальные исследования опухолей до Ямагивы

Ранее было известно, как трансплантировать спонтанные опухоли подходящим животным-реципиентам, и ученые приступили к исследованиям свойств и поведения «искусственных» опухолей. Некоторые из первых перевиваемых опухолей, в частности саркома Иенсена, до сих пор служат тест-объектами во многих институтах, где ведутся исследования рака. Однако в основном все эти опухоли принадлежат к числу спонтанных; они возникают самостоятельно у животного и далее могут расти не только у того животного, у которого возникли, но также у любого количества животных, которым будут перевиты. Иными словами, их можно рассматривать как живые препараты из патологического музея, а не как репрезентативные примеры опухолевого роста. Помочь в разрешении вопроса, как и почему возникает опухоль, они не могут.

А между тем именно этот вопрос занимал умы многих патологов минувшего века. Среди попыток дать объяснение этому процессу следует выделить следующие:

1. Вирхов в своей работе “Die krankhaften Geschwülste” (1863) настаивал на том, что рак в конечном итоге возникает в результате раздражения; при этом он ссылался на случаи, описанные Поттом.

2. Конгейм и Рибберт постулировали, что в организме сохраняются остатки эмбриональной ткани, которые могут послужить причиной возникновения злокачественной опухоли.

3. И наконец, многие ученые допускали, что опухоли вызываются паразитами.

Фольке Хеншен, шведский патологоанатом и свидетель описываемых событий, в своей лекции, посвященной памяти Ямагивы, так описывал всеобщее настроение: «Бурный прогресс в микробиологии к концу XIX в. побудил многих

ученых искать причину всех типов рака в инфекции бактериями, грибами, водорослями и простейшими или же в инвазии животными паразитами различной природы... Я хорошо помню, как в Париже престарелый французский ученый Боррель отвел меня в сторонку, надеясь убедить в значении аскарид как канцерогенного фактора... Вскоре первоначальная паразитарная гипотеза была забыта, однако затем она возродилась вновь, но на сей раз, как мы знаем, в облики вирусной гипотезы».

Этого возрождения не пришлось долго ждать: первые вирусные опухоли были открыты уже в 1908 и в 1910 гг., но официальная наука, занимающаяся исследованиями рака, не придала этому значения.

На пороге текущего столетия особый успех выпал на долю гипотезы Конгейма — Рибберта: „Мне приходилось слышать, как патологоанатомы несколько высокомерно высказывались о «старой» теории раздражения Вирхова как о теории, отошедшей в прошлое”.

Между тем теория раздражения Вирхова послужила стимулом к многочисленным попыткам исследователей вызвать рак экспериментально путем использования «внешнего раздражителя». Попытки оказались безуспешными. «Все эти неудачи создали у многих капитулянтское настроение,— суммировал Хеншен.— Казалось, что рак так и не удастся постигнуть».

В этих условиях нетрудно себе представить, с каким облегчением встретили ученые в 1915 г. сообщение Ямагивы и Ишикавы «Экспериментальное исследование атипической эпителиальной пролиферации».

Ямагива и Ишикава индуцируют первые экспериментальные опухоли

Оба японских ученых прибегли к чрезвычайно простому методу: два-три раза в неделю стеклянной палочкой они наносили каменноугольную смолу на внутреннюю часть уха кролика. В месте смазывания смолой лишь спустя три месяца возникли бородавчатые разрастания. Затем эти разрастания увеличились и в конце концов почти полностью превратили ухо животного в раковую опухоль.

Удача и терпение сыграли здесь равную роль: только продолжительное нанесение каменноугольной смолы позволило ученым индуцировать папилломы и карциномы. Но

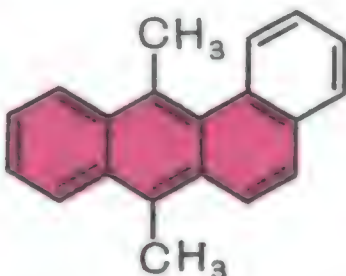
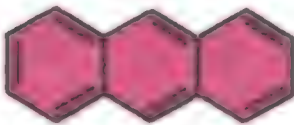
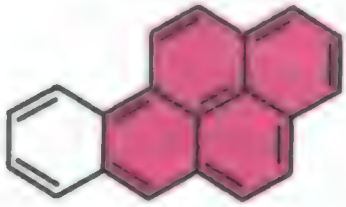
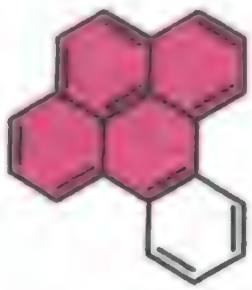
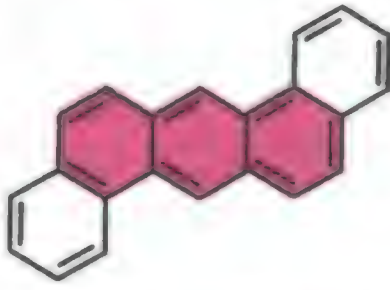
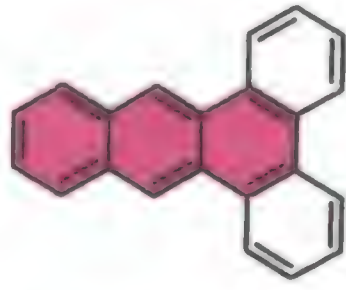
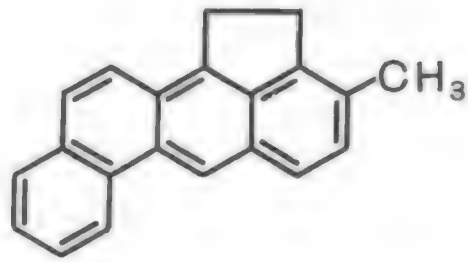
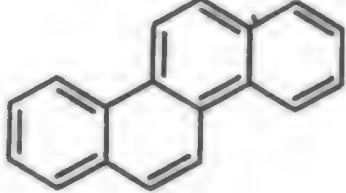
используй они в своих опытах собак или морских свинок, даже поистине нечеловеческое терпение не дало бы результатов.

Вскоре выяснилось, что простое смазывание спинок мышей также приводит к образованию опухолей — доброкачественных и злокачественных. Это открытие существенно облегчило работу экспериментаторов: ведь мыши гораздо меньше кроликов и содержать их легче, что позволяет использовать большее число животных. Кроме того, значительно сокращалось время, нужное для возникновения опухоли. Все, вместе взятое, привело к тому, что мыши стали стандартными животными в изучении рака; Национальный институт рака в США даже стали иногда в шутку называть «Национальным мышинным институтом».

Следующий вопрос, который стал перед учеными, напрашивался сам собой: какие же вещества в смоле являются подлинным индуктором опухолей? Несмотря на то что мыши представляли собой «удобный» экспериментальный материал, казалось, что к этому вопросу нельзя подступиться, ибо химия смол находилась еще в зачаточном состоянии, и в основном было известно, что смола является смесью большого числа различных веществ. К сожалению, трудность заключалась не только в этом: для того чтобы изучить канцерогенные свойства частично очищенных фракций смолы, приходилось ждать месяцами, прежде чем сделать вывод о том, является ли данная фракция активной. Да и сам процесс многоступенчатой очистки, которая обычно используется при изучении сложных смесей, невероятно трудоемкий.

Несколько граммов 3,4-бензпирена из 2 т смолы

Несмотря на указанные трудности, англичане Кук, Хьюитт и Хайджер сделали попытку выделить чистый канцероген из каменноугольной смолы. Помимо терпения, эти ученые обладали и смелостью: не полагаясь на биологические тесты, которые потребовали бы месяцев ожидания, они использовали физико-химические характеристики. Уже тогда было известно, что все изученные смолы имеют одинаковый спектр флуоресценции. Это обстоятельство приобрело особое значение, когда выяснилось, что почти такой же спектр имеет и чистое соединение —

 7,12 - ДИМЕТИЛБЕНЗАНТРАЦЕН	 АНТРАЦЕН
 3,4 - БЕНЗПИРЕН	 1,2 - БЕНЗПИРЕН
 1,2:5,6 - ДИБЕНЗАНТРАЦЕН	 1,2:3,4 - ДИБЕНЗАНТРАЦЕН
 3 - МЕТИЛХОЛАНТРЕН	 ХРИЗЕН
УМЕРЕННЫЕ И СИЛЬНЫЕ КАНЦЕРОГЕНЫ	СЛАБОКАНЦЕРОГЕННЫЕ ИЛИ НЕАКТИВНЫЕ
ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИЕ	УГЛЕВОДОРОДЫ

Ф и г. 3.

1,2-бензантрацен. Поэтому английские ученые могли рассчитывать на то, что им удастся выделить чистое соединение, которое в случае большого везения окажется канцерогеном.

На газовом заводе по просьбе Кука подвергли фракционной перегонке 2 т смолы. После многократной перегонки, кристаллизации и приготовления характерных производных ученым удалось выделить 50 г (выход $2,5 \cdot 10^{-6} \%$!) какого-то им не известного соединения. Это был 3,4-бензпирен, который, как было установлено биологическими тестами, оказался вполне пригодным для исследований канцерогеном.

Но 3,4-бензпирен не относится к числу самых первых чистых канцерогенов. В 1929 г. Кук уже синтезировал 1,2,5,6-дибензантрацен (ДБА), который также оказался активным канцерогеном.

Оба соединения — и 3,4-бензпирен и 1,2,5,6-дибензантрацен — принадлежат к классу полициклических углеводородов. Представители этого класса содержат в качестве основного строительного блока бензольные кольца, которые могут быть объединены в многочленные кольцевые системы в различных сочетаниях (фиг. 3).

Полициклические углеводороды способны вызывать опухоли не только на коже

Однократная подкожная инъекция 7,12-диметилбензантрацена (ДМБА), 3,4-бензпирена (БП) и других канцерогенных углеводородов ведет после довольно длительного латентного периода (3—4 месяца, в зависимости от дозы) к развитию саркомы. В этих опытах крысы оказались значительно более чувствительными, чем мыши.

При подкожном введении ДМБА только что родившимся мышам возникают многочисленные лимфомы (опухоли лимфатических желез), а обычные саркомы в месте введения обнаруживаются редко. У мышей опухоли яичников образуются в тех случаях, если им скармливают ДМБА, вводят его внутрибрюшинно или просто смазывают спину; у крыс же такая обработка вызывает рак молочной железы. Как у крыс, так и у мышей многократное внутривенное введение ДМБА, кроме того, ведет к развитию различных лейкозов. После скармливания БП наблюдаются опухоли желудка и легких, а также лейкозы. У хомячков после нанесения на кожу ДМБА возникают злокачественные

меланомы (опухоли из меланоцитов — клеток, синтезирующих пигмент).

Как ни парадоксально, полициклические углеводороды способны и подавлять развитие рака: так, 3-метилхолантрен (МХ) блокирует экспериментальное индуцирование опухолей печени 3'-метил-4-диметиламиноазобензолом и 2-флуоренилацетамидом. Миллер и Миллер, подробно изучая этот эффект, установили, что МХ индуцирует микросомальные ферменты в печени, которые, по-видимому, превращают эти канцерогенные амины в неактивные производные.

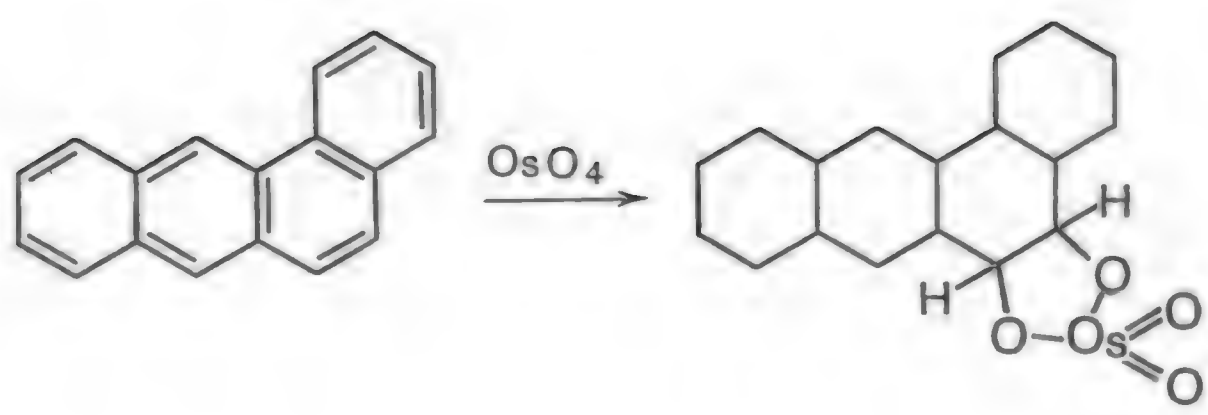
Подобно многим канцерогенам, полициклические углеводороды токсичны: слишком большая доза убивает подопытных животных. Но даже у выживших животных часто замечен токсический эффект: некротические участки на коже в месте нанесения, некроз коры надпочечника. Возможно, что токсический эффект играет важную роль и в канцерогенезе, но к этому вопросу мы еще вернемся.

Теории химического механизма канцерогенеза, вызываемого углеводородами

Из большого числа известных полициклических углеводородов лишь немногие являются канцерогенами. Сам бензол, нафталин, антрацен и фенантрен не канцерогенны. Что же касается 3,4-бензпирена и 1,2,5,6-добензантрацена, то они довольно сильные канцерогены. (3,4-БП играет особую роль в окружающей человека среде: остатки сгорания нефти, выхлопные газы, пыль на улицах, свежая земля в поле, дым сигарет и даже копченые продукты содержат в некоторых случаях существенное количество этого канцерогенного углеводорода.) Как ни удивительно, 1,2-бензпирен и 1,2,3,4-бензантрацен, структурно очень сходные с этими двумя соединениями, не являются канцерогенами (см. фиг. 3). Замещенные углеводороды — 3-МХ, ДМБА и 9,10-диметилантрацен — особенно активны, тогда как 1,2-бензантрацен весьма мало активен, а антрацен, как мы уже отмечали, и вовсе неактивен.

Чем же вызваны эти различия? Вполне возможно, что неодинаковой химической активностью этих соединений. Иными словами, химически активные вещества могут быть канцерогенами. Основные типы реакций, которые следует рассмотреть, — реакции присоединения и замещения; реак-

ции присоединения особенно важны для объяснения природы канцерогенной активности. В качестве примера рассмотрим реакцию полициклических углеводородов с четырехокисью осмия:



Механизм реакции полностью не изучен, но для упрощения можно сказать, что имеющаяся в этом соединении двойная связь обеспечивает начало реакции. Двойные связи, которые вступают в реакцию легче, чем другие аналогичные связи в данном соединении, часто называют «К-районами». Приводимая ниже таблица подтверждает гипотезу о том, что химическая и канцерогенная активности коррелируют друг с другом (табл. 1).

Таблица 1

Реакция присоединения в К-районе и канцерогенная активность

Углеводород	Скорость связыва- ния OsO ₄	Канцерогенная активность
Бензол	0	—
Фенантрен	0,2	—
1,2-Бензантрацен	1	+
1,2,5,6-Дибензантрацен	1	++
3,4-Бензпирен	2	+++

Правда, ограниченность такого простого сравнения бросается в глаза: 1,2-бензантрацен, будучи весьма активным, тем не менее не обладает канцерогенной активностью. И все же мысль о связи химической и канцерогенной активности не следует отбрасывать. Нужно учитывать, что скорость связывания четырехокиси осмия отражает лишь часть широкого спектра возможных химических реакций, в которые может вступать данное соединение.

В теории Пульмана, например, дается существенное дополнение по так называемым Л-районам (то есть районам с активными атомами, находящимися в *пара*-положении):

согласно теории, только комбинация «активного К-района» с «неактивным Л-районом» обеспечивает соединению способность вызывать опухоли.

В последнее время идея о том, что эпоксид¹ канцерогенного углеводорода может оказаться необходимой промежуточной химически активной формой, получила широкое распространение (Симс, Гельбойн, Хайдельбергер). Такие эпоксиды представляют собой более эффективные трансформирующие агенты в тканевых культурах, чем углеводороды, из которых они образуются, и в то же время они *in vivo* не более эффективны. Несмотря на сложность проблемы, изучение эпоксидов, по-видимому, окажется наиболее многообещающим подходом к выяснению химически активных форм углеводородов.

Хотя непосредственное определение химической активности многих возможных промежуточных химических продуктов кажется заманчивым, это непрактично. Расчеты волновой механики с помощью карандаша, бумаги или вычислительной машины позволяют вычислять параметры, которые качественно характеризуют соответствующую химическую активность изучаемого углеводорода. Эти расчеты получили название «волновой» теории химического канцерогенеза. Однако в каждом отдельном случае мы лишь постулируем, что для канцерогенеза необходим данный тип химической реакции, и пытаемся связать канцерогенную активность с подсказанной расчетами возможностью химического соединения вступить в эту реакцию.

Полициклические углеводороды связываются белками

В ультрафиолетовом свете полициклические углеводороды дают сильную флуоресценцию от бело-голубой до бело-желтой. Используя этот высокочувствительный метод определения, Е. Миллер в 1951 г. пришел к выводу, что 3,4-бензпирен в коже мыши связывается белками. Его опыты были продолжением более ранних экспериментов, в которых удалось обнаружить связывание канцерогенных азокрасителей белками печени (см. стр. 55). Очевидно, канцерогены связываются белками именно того органа, в котором они индуцируют опухоль.

Хайдельбергер продолжил эксперименты, пользуясь ра-

¹Окись двухатомного спирта. — Прим. перев.

диоактивными углеводородами. Полученные результаты на первый взгляд оказались разочаровывающими: растворимыми белками кожи связывались не только канцерогенные, но и неканцерогенные углеводороды. Это означало, что реакцию связывания канцерогена белками нельзя считать основополагающей в канцерогенезе. Однако новые опыты еще раз пробудили интерес к «связыванию белками»: Абель и Хайдельбергер разделили растворимые белки кожи мыши при помощи электрофореза в крахмальном геле и обнаружили, что канцерогенные углеводороды преимущественно связывались определенной фракцией слабоосновных белков, в то время как неканцерогенные соединения связывались бóльшим числом различных фракций.

Проведенные опыты позволили существенно расширить химическую теорию возникновения опухолей: очевидно, что важна не только химическая активность канцерогена, но и химическая активность его партнера по реакции, в данном случае определенного класса белков.

Белки могут быть регуляторами роста

Миллеры уже высказывали предположение, что азокрасители связываются не всякими белками, а лишь теми, которые регулируют рост. Приняв эту гипотезу за основу, мы можем построить очень простую модель раковой клетки: потеря вещества, регулирующего рост, автоматически вызывает неконтролируемые деления клетки. Канцерогены дезактивируют «регуляторные» белки; последние в свою очередь не могут быть заменены. Так возникают опухолевые клетки, в которых эти белки постоянно отсутствуют. Еще 20 лет назад подобное объяснение ни у кого не могло вызвать недоумения, поскольку в то время многие полагали, что именно белки ответственны за собственное воспроизводство (белковая матрица в синтезе белка). Однако, по мнению современных ученых — мнению, по существу ставшему догмой, — за воспроизводство специфической структуры белков ответственны нуклеиновые кислоты. Тем самым белки оказались спущенными на второй уровень в клеточной иерархии. Но в таком случае почему бы канцерогенам не реагировать с нуклеиновыми кислотами, особенно с ДНК?

Полициклические углеводороды реагируют и с ДНК

Длительное время исследователям не удавалось продемонстрировать связывания канцерогенных углеводородов с ДНК в коже мыши. Объяснялось это довольно просто: связыванию подлежит относительно небольшое число молекул, которые могут быть выявлены лишь с помощью соединений, обладающих высокой радиоактивностью. Но даже в этом случае следует крайне тщательно проводить процедуру измерения, чтобы обнаружить чрезвычайно низкий уровень излучения.

Брукс и Лоули первыми окончательно доказали, что полициклические углеводороды связываются ДНК. Кроме того, они обнаружили, что связывание и канцерогенная активность коррелируют друг с другом, хотя Гошмен и Хайдельбергер не смогли в полной мере воспроизвести указанную корреляцию. На реакции связывания канцерогена ДНК мы остановимся в специальной главе (стр. 238), поскольку она требует подробного обсуждения. А сейчас обратимся к другому классу химических канцерогенов — ароматическим аминам.

Заключение

Первые экспериментальные опухоли при помощи химического вещества вызвали Ямагива и Ишикава (рак у кроликов, спровоцированный каменноугольной смолой, 1915 г.). Было показано, что основным канцерогенным фактором смолы являются полициклические углеводороды, среди которых находятся хорошо известные 3,4-бензпирен и 3-метилхолантрен. Но не все полициклические углеводороды обладают канцерогенной активностью; небольшие изменения в структуре молекулы способны подавлять канцерогенную активность (ср. 3,4-бензпирен и 1,2-бензпирен).

Были сделаны также попытки установить связь между канцерогенной и химической активностью этих углеводородов. Однако, помимо химической активности, следует принимать во внимание и реакционную способность партнера по реакции; такими потенциальными партнерами могут быть белок, РНК и ДНК.

Какие компоненты смолы вызывают рак, известно довольно хорошо, но как они это делают, далеко не ясно.

Ароматические амины: активация через метаболизм

С распространением в Европе во второй половине XIX в. больших и малых красильных фабрик не только увеличилось производство красителей, но и участились случаи заболеваемости опухолями. Разумеется, в самом начале эту опасность невозможно было предвидеть. Первые анилиновые красители были открыты в Англии и Франции, но вскоре интенсивное производство анилиновых красок было налажено и в Германии. Еще и сегодня памятью о зарождении промышленного производства красителей в Германии служит огромный химический завод в Бадене, вырабатывающий анилин и соду.

Альфред фон Нагель так описывает картину первичного технологического процесса [30]:

Фуксин получали в фуксиновом расплаве путем окисления так называемого анилинового красного, представляющего собой смесь анилина и толуидинов, которая образовывалась при тогдашнем способе получения анилина из не полностью очищенного бензола. Для приготовления таких фуксиновых расплавов смесь анилинового красного перемешивали с раствором мышьяковистой кислоты в металлическом эмалированном котле над открытым пламенем в течение 6 — 8 ч при 170—180°. Непрореагировавший анилин отгонялся и конденсировался на охлаждаемой свинцовой спирали. Затем отвердевший расплав растворяли в кипящей воде в железных котлах. При добавлении поваренной соли и соляной кислоты образовывался гидрохлорид фуксина, который выкристаллизовывался. Для того чтобы охладить этот раствор как можно медленнее в целях получения кристаллов наибольшего размера, жидкость накрывали плавающей на поверхности деревянной крышкой, на которой образовывались самые правильные по форме кристаллы. Кристаллизация продолжалась 6 недель, а в разгар лета и того дольше. Затем крышку снимали, давали жидкости стечь, кристаллы же собирали и высушивали на решетках. Сухие кристаллы сортировали вручную в соответствии с их размерами и формой, поскольку качество фуксина оценивалось по внешнему виду кристаллов.

Другие анилиновые красители, ассортимент которых постоянно расширялся, изготавливались посредством сходных, лишенных всяких мер предосторожности технологических процессов.

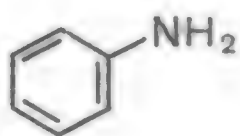
Рак, вызываемый анилином (но повинен в этом не сам анилин)

Еще в 1895 г. франкфуртский хирург Рен сообщил об участившихся случаях рака мочевого пузыря среди рабочих красильной фабрики. Несмотря на ограниченное число пациентов, Рен заподозрил, что анилин имеет какое-то отношение к возникновению опухолей. С течением времени это подозрение усилилось, и стали говорить уже не только об анилиновых красителях, но и об «анилиновом раке». Рак мочевого пузыря обнаруживался даже у рабочих, которые давно перестали работать с красителями (вплоть до 35 лет). Правда, позднее выяснилось, что опухоли вызывает не сам анилин: появился черный список других ароматических аминов, особенно таких, как β -нафтиламин, а также бензидин и дифениламин. Сегодня с этими опасными промежуточными продуктами обращаются все более осторожно, а некоторые из них даже полностью изымаются из производства. Достаточно сказать, что, например, сейчас синтез свободного β -нафтиламина заменен другим химическим процессом.

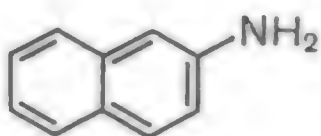
В истории ароматических аминов азокрасители играют особую роль. Появившиеся вслед за анилиновыми красителями — фуксином и розанилином, они отличаются широким спектром красок и рядом других свойств. Канцерогенность азокрасителей также была обнаружена не сразу, хотя уже на первых порах раздавались недвусмысленные предостережения.

Масляный желтый и канцерогенные азокрасители

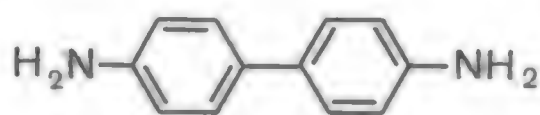
Алый красный (известный также как алый Бибриха) очень быстро заставил врачей заговорить о себе (фиг. 4). В 1906 г. Фишер-Базельс обнаружил пролиферацию эпителия кожи ушей кроликов после многократного введения под кожу алого красного в масляном растворе. Это позволило сделать вывод, что упомянутый краситель стимулирует рост, после чего его стали интенсивно использовать при лечении ран для ускорения заживления.



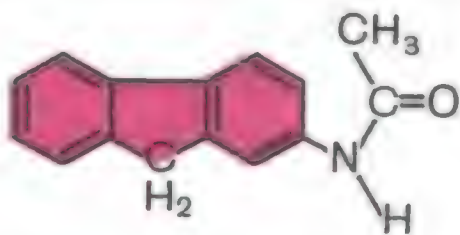
АНИЛИН
(АМИНОБЕНЗОЛ)



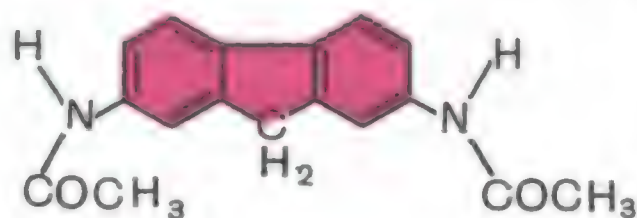
β - НАФТИЛАМИН
(2-АМИНОНАФТАЛИН)



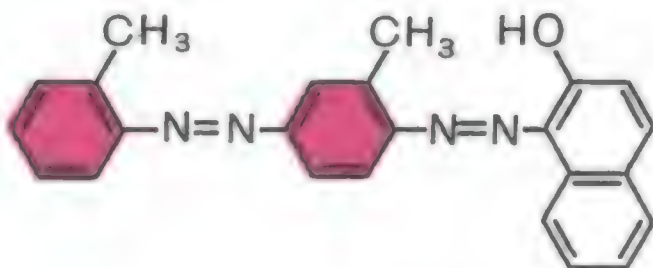
БЕНЗИДИН



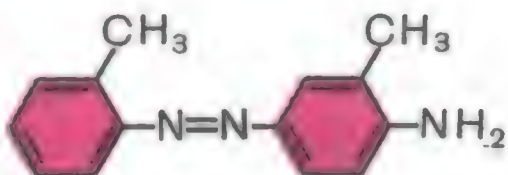
2-АЦЕТИЛАМИНОФЛУОРЕН
(ААФ)



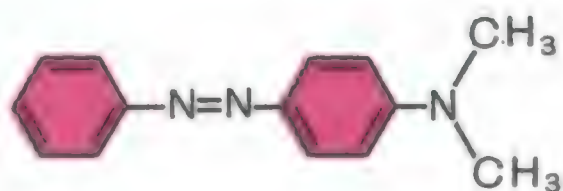
N-N' - 2,7 - ФЛУОРЕНИЛ- *бис*-
АЦЕТАМИД



АЛЫЙ КРАСНЫЙ



о-АМИНОАЗОТОЛУОЛ



АЗОБЕНЗОЛ (ДАБ)
(МАСЛЯНЫЙ ЖЕЛТЫЙ)

АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНЫ И АЗОКРАСИТЕЛИ

Прошло 30 лет, прежде чем японские ученые Сазаки и Йошида обнаружили канцерогенный эффект *o*-аминоазотолуола, структурного компонента алого красного. Исследователи скармливали крысам рис, к которому добавляли масляный раствор *o*-аминоазотолуола. У всех крыс, проживших после употребления такой пищи свыше 255 дней, развились гепатомы. После этого открытия проверке на канцерогенную активность подверглись многочисленные соединения, и в первую очередь азокрасители. Вскоре (1936) Киносита обнаружил, что *N,N*-диметил-4-аминоазобензол еще более сильный канцероген, чем аминоазотолуол. Повседневное название диметиламиноазобензола (ДАБ) — масляный желтый — идет от практики (к счастью, теперь уже забытой) добавления этого красителя к маргарину или сливочному маслу зимой для придания им цвета летнего свежего продукта.

Ацетиламинофлуорен, «недоношенный» инсектицид

В 1940 г. ацетиламинофлуорен (см. фиг. 4) был запатентован в качестве основного ингредиента инсектицида. Однако перед тем как запустить в производство, его подвергли тщательному анализу, включая проверку на возможную канцерогенную активность. Через год не осталось сомнений в том, что 2-ацетиламинофлуорен — высокоактивный канцероген, способный вызывать опухоли у крыс, мышей, собак, кошек, кроликов и цыплят. Преобладали опухоли мочевого пузыря и печени, но могли возникать и опухоли молочной железы, легкого и рак матки. В большинстве экспериментов 2-ацетиламинофлуорен добавляли к пище животных. Локально он был неактивен, иными словами, в месте его введения опухоли не развивались. Понятно, что вопрос об использовании 2-ацетиламинофлуорена в качестве пестицида отпал.

2-Ацетиламинофлуорен является амидом (уксусной кислоты). Однако логичнее рассматривать его в одном ряду с упомянутыми выше ароматическими аминами. Как мы уже отмечали, наиболее важные представители последних — β -нафтиламин, азокрасители и аминофлуорен. Рассмотрим эти вещества подробнее, и в частности остановимся на их роли в метаболизме.

Не все аминоазокрасители — канцерогены

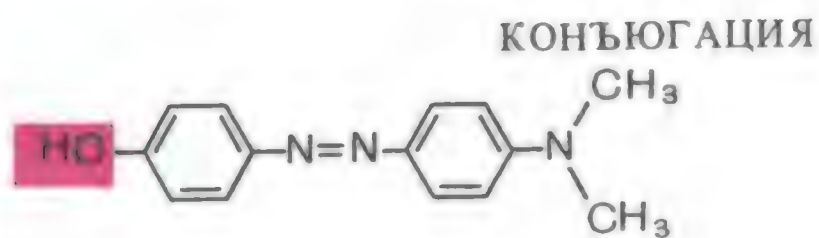
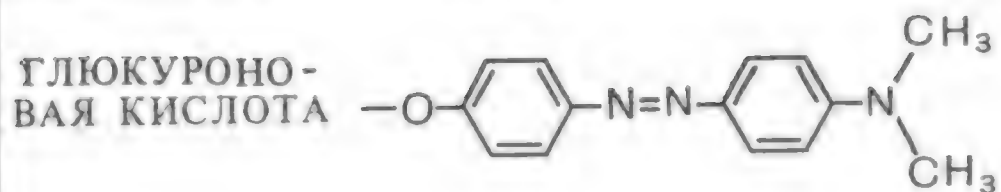
Ни в коем случае нельзя считать все аминоазокрасители канцерогенами. Так, основной строительный блок аминоазокрасителей, 4-аминоазобензол (АБ), обладает либо очень слабой канцерогенной активностью, либо не обладает ею вовсе. Что же касается N-метил-4-аминоазобензола и ДАБ, то они высокоактивны. Если во «второе» бензольное кольцо ввести дополнительную метильную группу в соответствующее положение, получится очень сильный канцероген, 3-метил-N,N-диметил-4-аминоазобензол. Если эта дополнительная метильная группа присоединяется на одно положение дальше (на противоположном конце от аминогруппы), то образуется соединение (4'-метил-ДАБ), которое почти не активно.

Аминоазокрасители, подобные ДАБ, обычно вызывают только опухоли печени. Другие ароматические амины менее специфичны и вызывают опухоли также в других органах. Особенно ярким примером служит N,N'-2,7-флуоренилдиацетамид; это соединение вызывает у крыс образование опухолей молочной железы, кожи, легкого, желудка, кишечника, рак матки, печени и железы ушного прохода, а также ведет к развитию лейкозов и лимфом. Локализация опухоли варьирует в зависимости от способа введения канцерогена — путем скармливания или внутрибрюшинной инъекцией.

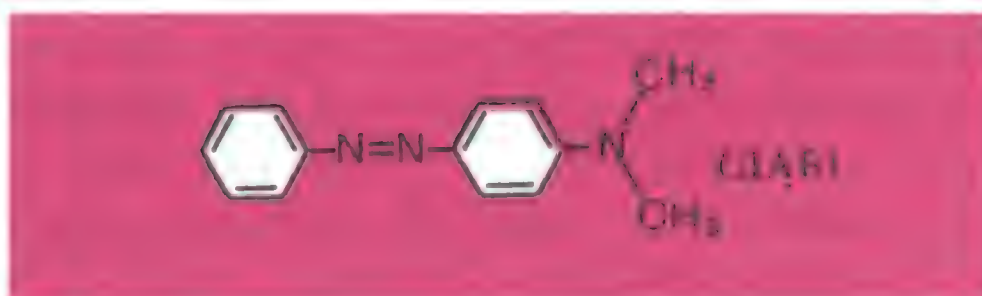
Ароматические амины становятся канцерогенами лишь в результате их метаболических превращений

Ароматические амины сами по себе не канцерогенны. Джорджиана Бонсер пришла к такому заключению на основании опытов с β-нафтиламином. Она смешивала β-нафтилимин с парафином и в виде маленьких таблеток имплантировала непосредственно в мочевой пузырь подопытным животным. Опухоли развивались лишь в редких случаях, хотя при скармливании β-нафтиламина опухоли мочевого пузыря образовывались у собак, кроликов и морских свинок.

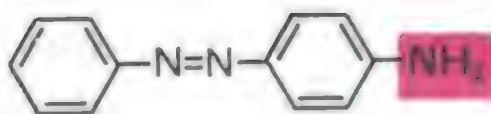
Эти опыты со всей очевидностью показали, что по крайней мере β-нафтиламин непосредственно не может вызывать опухоли. По-видимому, его превращение в активную форму происходит в процессе прохождения через различные органы животного. Именно поэтому при скар-



ГИДРОКСИЛИРОВАНИЕ.



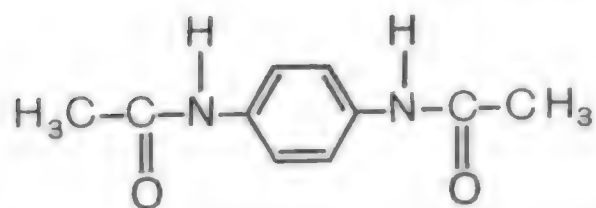
ДЕМЕТИЛИРОВАНИЕ



ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ
РАСЩЕПЛЕНИЕ



АЦЕТИЛИРОВАНИЕ



НЕКОТОРЫЕ МЕТАБОЛИТЫ ДАБ

Ф и г. 5.

мливании β -нафтиламин канцерогенен, а при прямой имплантации в мочевой пузырь — нет.

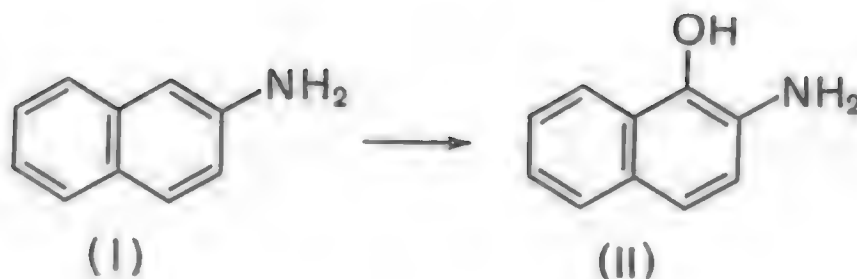
Не удивительно, что внимание многих ученых было привлечено к метаболическим продуктам, образующимся в организме из ароматических аминов. Результаты проведенных исследований можно суммировать в следующем виде (фиг. 5):

- а) возможно ацетилирование и деацетилирование (присоединение или удаление ацетильной группы от аминогруппы);
- б) возможно восстановительное расщепление азокрасителя по диазосвязи;
- в) возможно удаление N-метильной группы;
- г) ароматические кольца могут быть гидроксилированы;
- д) возможно соединение с глюкуроновой кислотой (см. также стр. 93).

Удаление метильной группы, очевидно, не представляет для нас интереса. АБ, который образуется в процессе этой реакции из ДАБ, как мы уже видели, не является канцерогеном. Аналогично восстановление азогруппы ведет к образованию неактивных (неканцерогенных) веществ. Лишь в результате гидроксилирования, возможно, происходит активация ароматических аминов.

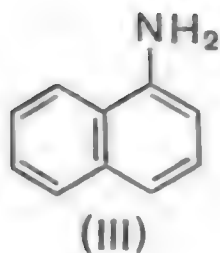
Гидроксилирование *o*-кольца: возрастание канцерогенности

Окисление ароматического кольца ведет к образованию фенола. В качестве примера можно сослаться на превращение β -нафтиламина (I) в новое вещество 1-окси-2-аминонафталин, или аминифенол (II):



Любопытно — так, по крайней мере, считали, — что α -нафтиламин (III) неканцерогенен: поскольку первое положение занято, по нему не может проходить окисление,

и, следовательно, активация этого соединения невозможна. Почему же окисление по второму положению, которое имеет место, не приводит к активации? Окончательного ответа на этот вопрос пока не существует.



Образование фенолов из ароматических аминов играет большую роль в химическом канцерогенезе. Все подопытные животные — крысы, мыши, кролики, собаки — при скармливании им β -нафтиламина выделяют с мочой в больших количествах 1-окси-2-аминонафталин (II). Однако наблюдаются и различия: так, β -нафтиламин активнее у тех животных, которые выделяют с мочой больше фенола. На основании этих сравнительных исследований обмена веществ Бонсер и Клейсон пришли к выводу, что *o*-аминофенолы относятся к числу промежуточных веществ на пути образования подлинных канцерогенов.

Бонсер и ее сотрудники решили подвергнуть гипотезу прямой проверке. Критики легко могли бы заявить, что аминифенолы — всего лишь продукты детоксикации, которые лучше растворяются в воде, чем предшествующие им амины. Если бы гидроксилирование кольца действительно было важно для активации ароматических аминов до канцерогенов, то аминифенолы оказались бы более сильными канцерогенами. Можно было бы предположить, что синтетические аминифенолы способны вызвать опухоли мочевого пузыря непосредственно, а не такими обходными путями, как в случае с β -нафтиламином. Поэтому Бонсер с сотрудниками синтезировала серию *o*-оксипроизводных соответствующих канцерогенных ароматических аминов и проверила действие этих производных и исходных соединений непосредственно на мочевом пузыре мышей. На сей раз соединения были смешаны с парафином и в виде таблеток имплантированы в мочевой пузырь.

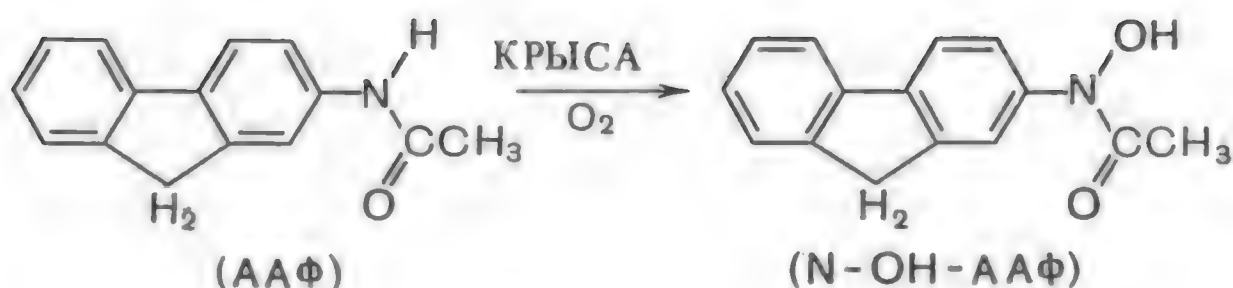
Полученные результаты не позволили сделать четких выводов. Хотя сам β -нафтиламин почти не вызывал опухолей, 1-окси-2-аминонафталин обладал выраженными канцерогенными свойствами. Однако в этих опытах были

и другие о-оксиамины, не проявившие канцерогенности. Некоторые из них оказались активными при имплантации и неактивными при скармливании.

Было бы несправедливо утверждать, что гипотеза о-гидроксилирования ошибочна, поскольку имеется несколько ароматических аминов, которые бесспорно проявляют бóльшую канцерогенность после гидроксилирования кольца. Но она, по-видимому, не охватывает всех случаев. В последующих работах была описана новая серия реакций, ведущая к росту канцерогенности и, судя по всему, обладающая универсальностью.

N-гидроксилирование — необходимый, но не всегда достаточный этап активации ароматических аминов

В 1960 г. Крамер и Миллеры описали новое вещество, выделенное из мочи крыс, которым в течение многих недель скармливали 2-ацетиламинофлуорен (ААФ). Этот новый метаболит отличался от ААФ наличием атома кислорода, присоединенного к атому азота; он получил название N-окси-2-ацетиламинофлуорена (N-ОН-ААФ).



Метаболизм ААФ ранее был тщательно изучен Вайсбургерами в Национальном институте рака в Бетесде. Но упомянутые ученые не следили за продуктами экскреции в течение длительного времени, а это было необходимо для обнаружения N-ОН-ААФ, ибо в определяемых количествах этот метаболит выделяется не сразу.

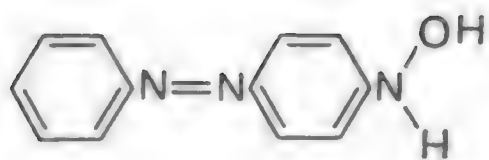
Решающую роль во всех проведенных исследованиях сыграла хроматография на бумаге. Даже Миллеры ограничились простым описанием «нового пятна» на бумажной хроматограмме полученного ими экстракта мочи. Разумеется, просто описать «новое пятно» на бумажной хроматограмме недостаточно. Его следует охарактеризовать, иными словами, для идентификации вещества, находящегося в пятне, необходимо провести микроанализ, а затем синтезировать предполагаемое соединение и сравнить его с продуктом, полученным из экскрементов крысы.

N-ОН-ААФ удалось синтезировать в больших количествах, после чего он был скормлен крысам. Вскоре выяснилось, что новое соединение обладает большей канцерогенностью, чем ААФ: вызывает опухоли быстрее и в тех органах, где ААФ пассивен. Было показано, что N-ОН-ААФ индуцирует опухоли у морских свинок, в то время как ААФ для этих животных не является канцерогеном. N-гидроксилирование — реакция, протекающая как в организме крысы, так и в организме человека. N-оксипроизводные, образованные из многих канцерогенных аминов и амидов, обладают более выраженной канцерогенностью, чем негидроксилированные исходные соединения. Абсолютно во всех случаях N-гидроксилированные производные более канцерогенны, чем исходные амины. Отмечено также несколько случаев (включая α -нафтиламин), когда благодаря реакции N-гидроксилирования неканцерогенный амин превращается в канцероген. Но иногда N-гидроксилирование не вызывает активации исходных соединений.

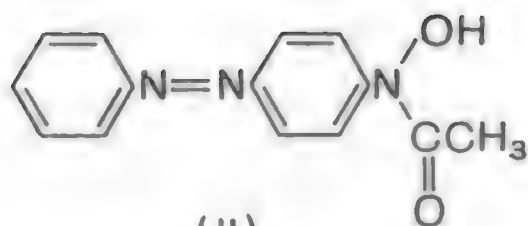
Несмотря на такие редкие исключения, в распоряжении исследователей оказалось немало данных, подтверждающих, что N-гидроксилирование — необходимый, но не всегда достаточный шаг для активации канцерогенных ароматических аминов. Для N-гидроксилированных форм канцерогенных аминов Миллеры предложили термин «непосредственный канцероген». Под этим понимают соединение, которое находится ближе к истинной активной форме канцерогена, чем родоначальный амин. Однако исследования не остановились на стадии «непосредственных канцерогенов». Из лаборатории Миллеров поступили первые сведения о том, каким образом активированные «окончательные канцерогены» способны образовываться из «непосредственных» форм. Успеху этой фазы исследований в одинаковой мере способствовали правильно поставленные опыты и просто чистая удача.

Аминоазокрасители также образуют N-оксипроизводные

При попытках перенесения схемы N-гидроксилирования на азокрасители возникли трудности в синтезировании соответствующих N-оксисоединений. Для синтеза N-ОН-АБ (I) и N-ОН-ацетил-АБ (II) был найден изящный метод:



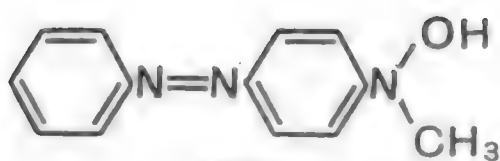
(I)



(II)

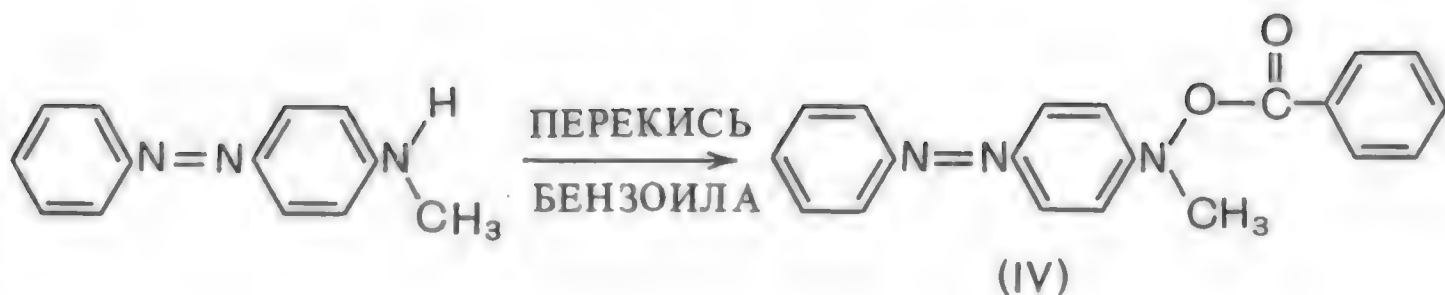
(Оба соединения были затем выделены из мочи крыс, которым скармливали АБ.)

Попытки же синтеза N-ОН-N-метил-АБ (III) не увенчались успехом.



(III)

Однако именно это соединение представляет наибольший интерес, поскольку N-метил-АБ (МАБ) является канцерогеном, а АБ — нет. Была сделана попытка подступить к N-ОН-МАБ окольным путем; хотя (III) и не был синтезирован, удалось приготовить его эфир в один этап из МАБ:



(IV)

Ученые предполагали, что полученный эфир легко гидролизуется и, возможно, из него можно будет получить «нестойкий» свободный N-ОН-МАБ. После того как были приготовлены довольно большие количества эфира, началось исследование его канцерогенности.

А теперь прервем на время обсуждение биологических результатов и рассмотрим другой проект, разрабатываемый в настоящее время группой Миллера, проект, который на первый взгляд не имеет ничего общего с N-гидроксилированием.

Азокрасители реагируют с метионином

Метаболические продукты азокрасителей, как правило, анализируются при помощи хроматографии на колонках. При проведении анализов ДАБ вводили крысе внутрибрю-

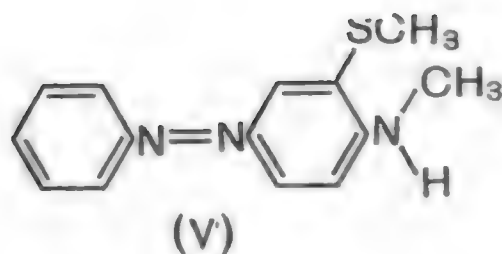
шинно; через день крысу забивали, печень удаляли и гомогенизировали, после чего гидролизovali в холодной щелочи и экстрагировали смесью бензола и гексана. После дальнейшей очистки экстракта смесь красителей разделяли на колонке с окисью алюминия. Помимо ДАБ, не подвергшегося изменениям, посредством описанного метода легко выделяли и демонстрировали МАБ и АБ. С его помощью Миллерам удалось показать деметилирование ДАБ в организме крысы еще в 1945 г.

В конце 1950 г. получил широкое распространение новый метод — газовая хроматография. Анализируемую смесь переводили в газообразное состояние и пропускали через разделительную колонку при помощи газа-носителя — аргона или гелия. В зависимости от природы стационарной фазы (наполнителя колонки) различные вещества в газовой смеси задерживаются в колонке по-разному, что и является основой их разделения. Газовая хроматография — более совершенный метод по сравнению с хроматографией на бумаге или хроматографией на колонках: она позволяет не только лучше производить разделение, но и делать это быстрее и с большей чувствительностью.

Метод газовой хроматографии, позволяющий отделять ДАБ от продуктов его деметилирования, был подвергнут проверке, так как предполагалось применить его к другим исследованиям алкильной группировки, присоединенной к азоту АБ. Однако последние опыты так и не были поставлены, поскольку первый пробный эксперимент со смесью красителей, выделенной из крысы, дал четыре пика вместо ожидаемых трех.

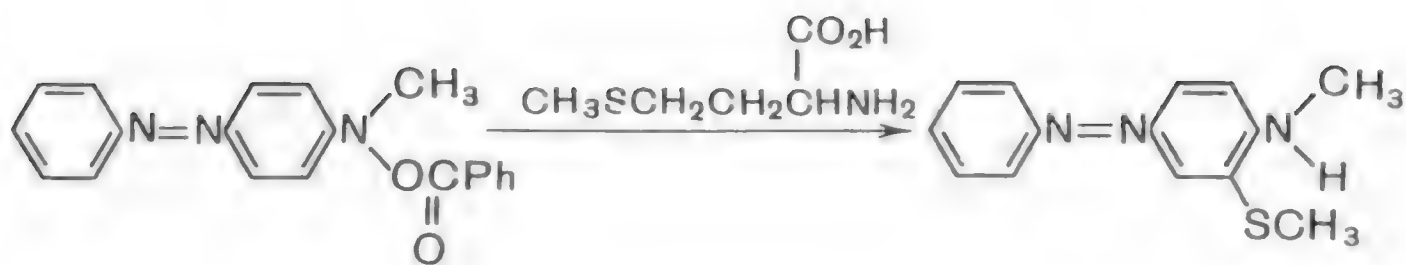
Что же собой представлял новый пик? После того как удалось показать, что новое соединение действительно является красителем, небольшие его количества подвергли микрохимическим анализам, позволившим дать лишь предварительное заключение. Для того чтобы получить это соединение в ощутимых количествах, пришлось забить сотни крыс, гомогенизировать сотни крысиных печеней, гидролизовать их и экстрагировать. В результате было получено 250 мкг (довольно большое количество) в виде желтой пленки на дне колбы. Полученное вещество подвергли инфракрасной спектроскопии, а для сравнения синтезировали вещество с такими же параметрами. Выделенное из крыс неизвестное соединение и соединение, синтезированное для сравнения, оказались полностью идентичными,

это был 3-метилмеркапто-N-метил-4-аминоазобензол (V):



Если допустить, что CH_3S -группа — производное метионина, то метионин должен реагировать с МАБ. Известно, однако, что МАБ не вступает в эту реакцию. Тем не менее N-оксипроизводные, по-видимому, обладают такой способностью, поскольку их можно найти среди продуктов метаболизма всех других изученных аминов.

К сожалению, N-ОН-МАБ, как мы уже отмечали, недоступен исследователям, но в нашем распоряжении находится его бензольный эфир (IV). И действительно, оказалось достаточным просто смешать N-бензоил-окси-МАБ с метионином и обработать смесь холодной щелочью, чтобы получить 3- CH_3S -МАБ.



Если же набраться терпения (4 ч), то щелочь можно даже и не добавлять. В любом случае для прохождения реакции не требовалось никакого фермента. Так удалось осуществить прямую реакцию между «активированным» канцерогеном и компонентом клетки. На этом этапе оставалось решить лишь два важных вопроса: сам ли эфир вступает в реакцию и является ли именно этот эфир канцерогеном?

N-оксиэфиры — заключительные этапы активации до истинного канцерогена («окончательные канцерогены»)

На первый вопрос ответ был получен в опыте с N-ОН-ААФ и его эфиром — N-ацетокси-ААФ: N-оксипроизводное, как и в предыдущих исследованиях, в реакцию с метионином не вступало; что же касается его уксуснокислого эфира, то он дал с метионином 3- CH_3S -ААФ в ощутимых количествах, позволяющих провести элементар-

ный анализ и другие исследования. Кроме того, N-ацетокси-ААФ и N-бензоилокси-МAB вступали в реакцию с гуанозином, компонентом РНК.

Вопрос о канцерогенности эфира был окончательно решен в следующих экспериментах. МAB не проявил канцерогенности при внутримышечном введении крысам, между тем как N-бензоилокси-МAB оказался сильным канцерогеном. В тех же опытах уксуснокислые эфиры четырех канцерогенных N-оксиамидов (включая N-ОН-ААФ) в свою очередь оказались более сильными канцерогенами, чем N-оксипроизводные. И здесь негидроксилированные производные были неактивны.

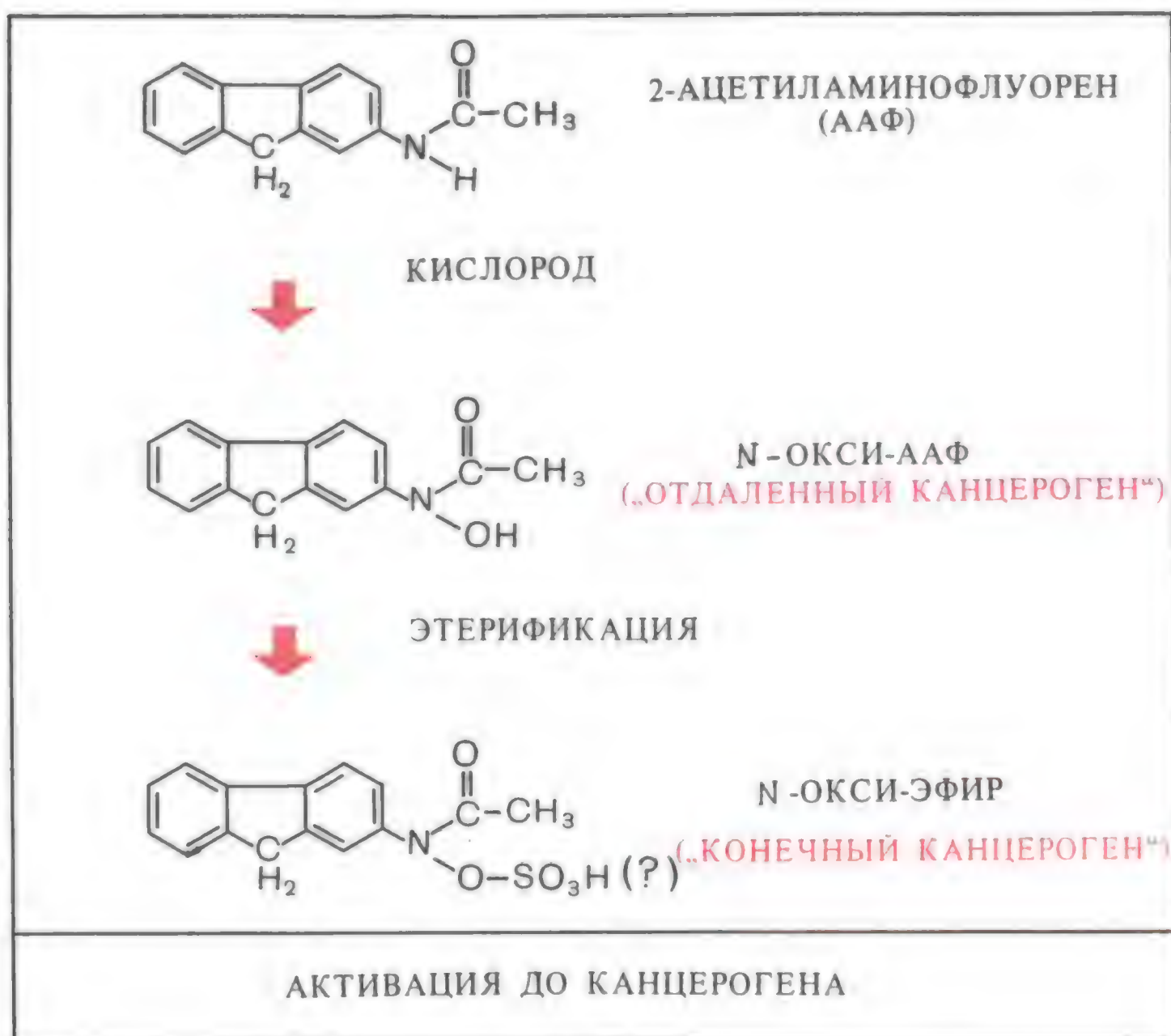
Следовательно, вполне разумно предположить, что N-оксиэфиры — активная форма многих ароматических аминов, причем такая, которая может реагировать непосредственно с компонентами клетки, без каких-либо ферментов. Именно для этой активной формы и был предложен Миллерами термин «окончательный (конечный) канцероген».

Но какие же эфиры образуются в клетке? Очевидно, не эфиры бензойной кислоты, так как бензойная кислота не участвует в нормальном метаболизме клетки. Более подходят ацетаты, фосфаты и сульфаты, поскольку все эти ионы содержатся в клетке в больших количествах, в том числе и в «активированных» формах. Последние помогают им вступать в реакцию с соответствующими партнерами (наиболее характерный пример — ацетил-КоА).

Какие же эфиры являются «окончательными канцерогенами»?

Помимо легко получаемых эфиров бензойной и уксусной кислот, были приготовлены также сернокислые эфиры. Все эти три типа эфиров N-ОН-ААФ, особенно сульфаты, реагируют *in vitro* с метионином. Кинг и Филлипс провели опыты с гомогенатами печени. Им удалось показать, что образуются как фосфорнокислые, так и сернокислые эфиры, хотя Миллеры смогли подтвердить лишь образование сернокислых эфиров. Затем Де Баун и Миллеры подробно изучили «сульфотрансферазную» систему; в этих опытах прояснились многие характеристики системы, а само ее существование получило окончательное подтверждение.

Согласно проведенным исследованиям, превращение ароматического амида (такого, как ААФ) в его активную



Ф и г. 6.

форму должно проходить по следующей схеме: амид → N-оксиамид («непосредственный (отдаленный) канцероген») → N-сернокислый эфир («окончательный канцероген») (фиг. 6). Последний реагировал в экспериментах на животных как с метионином, так и с гуанозином. Итак, можно считать, что связь между реакционной способностью *in vitro* и канцерогенностью *in vivo* была установлена настолько четко, насколько вообще это возможно.

У гипотезы N-гидроксилирования свои трудности

Путь от простого амина до превращения его в активный эфир прослежен в нескольких случаях, однако до сих пор не ясно, насколько он обязателен. Сами Миллеры не считают, что оксисульфэфир — окончательная фаза всех аминов, хотя в отношении ацетиламинофлуорена и уверены, что дело обстоит именно так. Что же касается таких аминов, как азокрасители и β-нафтиламин, то для полу-

чения «окончательных канцерогенов» достаточно образования неэтерифицированных N-оксисоединений. Последнее обстоятельство заслуживает особого внимания, поскольку эти соединения канцерогенны для собаки, хотя в ее организме реакции ацетилирования ароматических аминов не происходит (Пуарье).

Аррениус до какой-то степени усомнился в N-гидроксилировании в целом. По его мнению, «окончательным канцерогеном» является радикал, непосредственно ведущий к образованию N-оксипроизводных. Однако это, по-видимому, спорное утверждение по двум причинам: во-первых, экспериментальное доказательство его крайне затруднительно, а то и просто невозможно; во-вторых, N-оксисоединения возникают в результате метаболизма аминов и более канцерогенны, чем исходные соединения

Канцерогенные ароматические амины связываются белками

Взаимодействие МАБ с метионином свидетельствует одновременно и о связывании азокрасителей белками, но исторически сложилось так, что к этому выводу ученые пришли не сразу. Еще в 1947 г. Миллеры обнаружили, что белок печени крысы, которой скармливали ДАБ, в кислой среде розовеет, а в щелочной вновь обретает желтый цвет. Это окрашивание не исчезало после экстрагирования органическими растворителями; краситель отмывался, оставаясь, впрочем, связанным с аминокислотами лишь после переваривания белка протеолитическими ферментами или после гидролиза горячей щелочью. Разные красители обладают различной интенсивностью связывания. Так, 3'-метил-ДАБ связывается гораздо лучше, чем ДАБ, а последний в свою очередь связывается гораздо лучше, чем АБ. Это открытие повлекло за собой постановку двух существенных вопросов: какова химическая природа связывания и имеет ли оно какое-либо отношение к появлению опухолей?

Ответы на первый вопрос были получены лишь после открытия 3-CH₃S - МАБ и установления возможности реакции между N-бензоилокси-МАБ и другими аминокислотами, кроме метионина. Располагая этой информацией, Лин и Миллеры смогли легко доказать, что в рассматриваемую реакцию вовлекаются главным образом метионин и тирозин. Имеются также сведения об участии в реакции цистеина белка.

Чем сильнее канцероген, тем лучше связывание белками

Вопрос же о том, имеет ли связывание какое-либо отношение к появлению опухолей, сумели разрешить довольно быстро. ДАБ, АБ и 3'-метил-ДАБ, например, являются веществами, канцерогенность которых коррелирует с интенсивностью их связывания белками. Испытывались также другие С-монометильные производные ДАБ; оказалось, что скорости, с которыми ДАБ и его 5С-монометильные производные достигают максимального уровня связывания (около четырех недель для ДАБ), превосходно совпадают с канцерогенной активностью этих соединений.

Гипотеза о том, что связывание белками печени служит причинным фактором в развитии экспериментальных гепатом, находит подтверждение не только благодаря упомянутым выше результатам, но и на основании следующих фактов:

- а) если к пище крыс вместе с ДАБ добавлять рибофлавин, то наблюдается не только уменьшение числа возникающих гепатом, но и связывания красителей белками;
- б) крысы чувствительны к ДАБ, а мыши — нет. У этих двух видов обнаружен и различный уровень связывания ДАБ белками печени;
- в) одновременное скормливание 3-метилхолантрена и ДАБ также приводит к подавлению индуцирования гепатом и связывания красителя белками.

Все эти данные свидетельствуют о том, что образование опухолей печени находится в зависимости от того, связывается азокраситель (в частности, ДАБ) белками печени или нет.

Канцерогенные ароматические амины связываются преимущественно h_2 -белками

В печени содержится большое число разнообразных белков. Клетка печени должна не только поддерживать свою жизнедеятельность, но и решать целую серию «общественных проблем»: запастись гликоген для снабжения всего организма глюкозой в случае необходимости, принять через воротную вену продукты питания, разложить их и затем

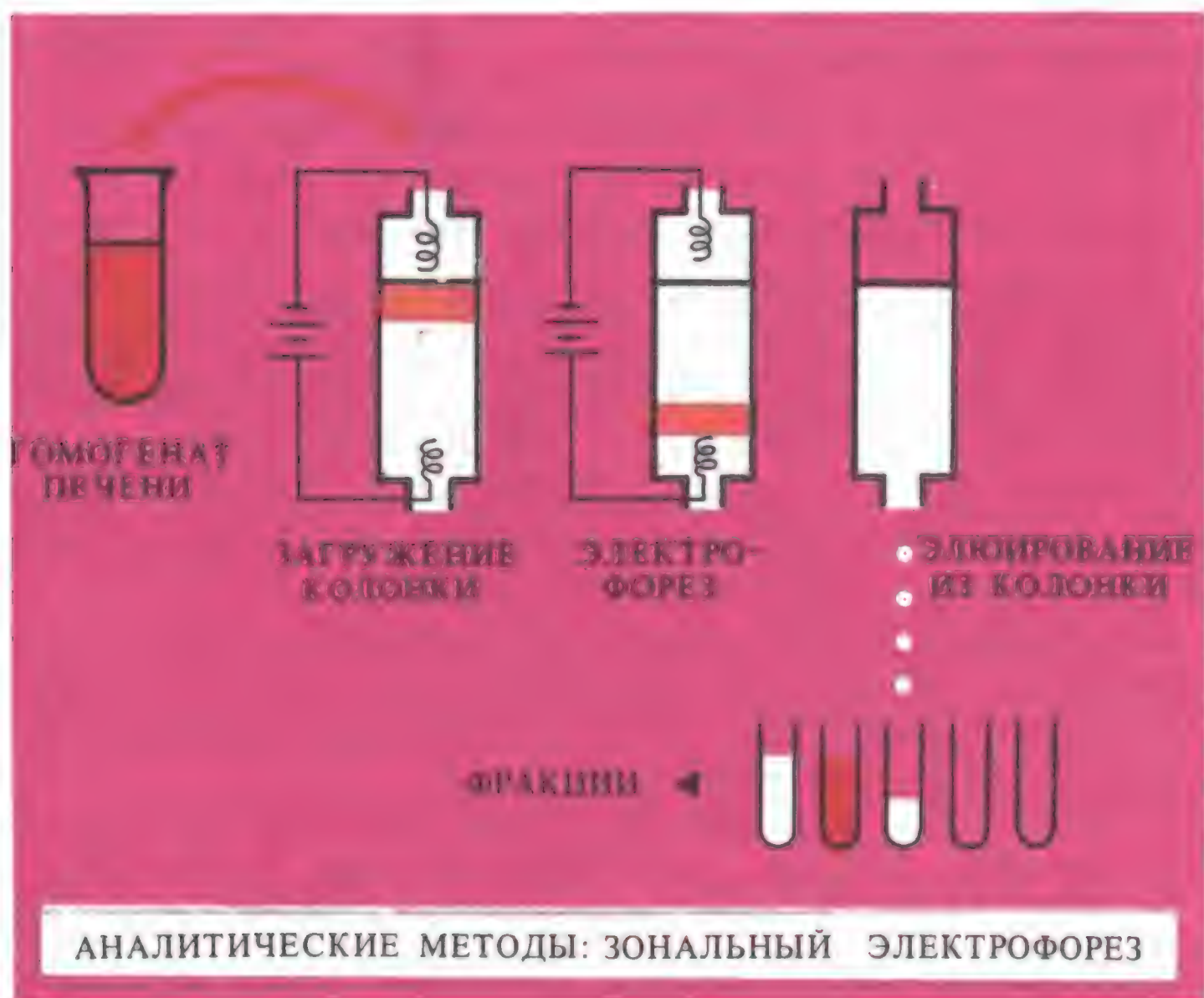
вновь собрать. Она ответственна также за часть тепла, вырабатываемого организмом. Для выполнения перечисленных задач необходимы ферменты, а все ферменты — это белки: отсюда широчайший спектр различных белков печени.

Эффективным методом разделения компонентов белковой смеси является электрофорез. Белки различаются по своему электрическому заряду — одни имеют большой отрицательный заряд, другие большой положительный. Известны также белки с суммарным нулевым зарядом. Если белковый раствор поместить в электрическое поле, положительно заряженные белки переместятся к отрицательному полюсу, а отрицательно заряженные — к положительному.

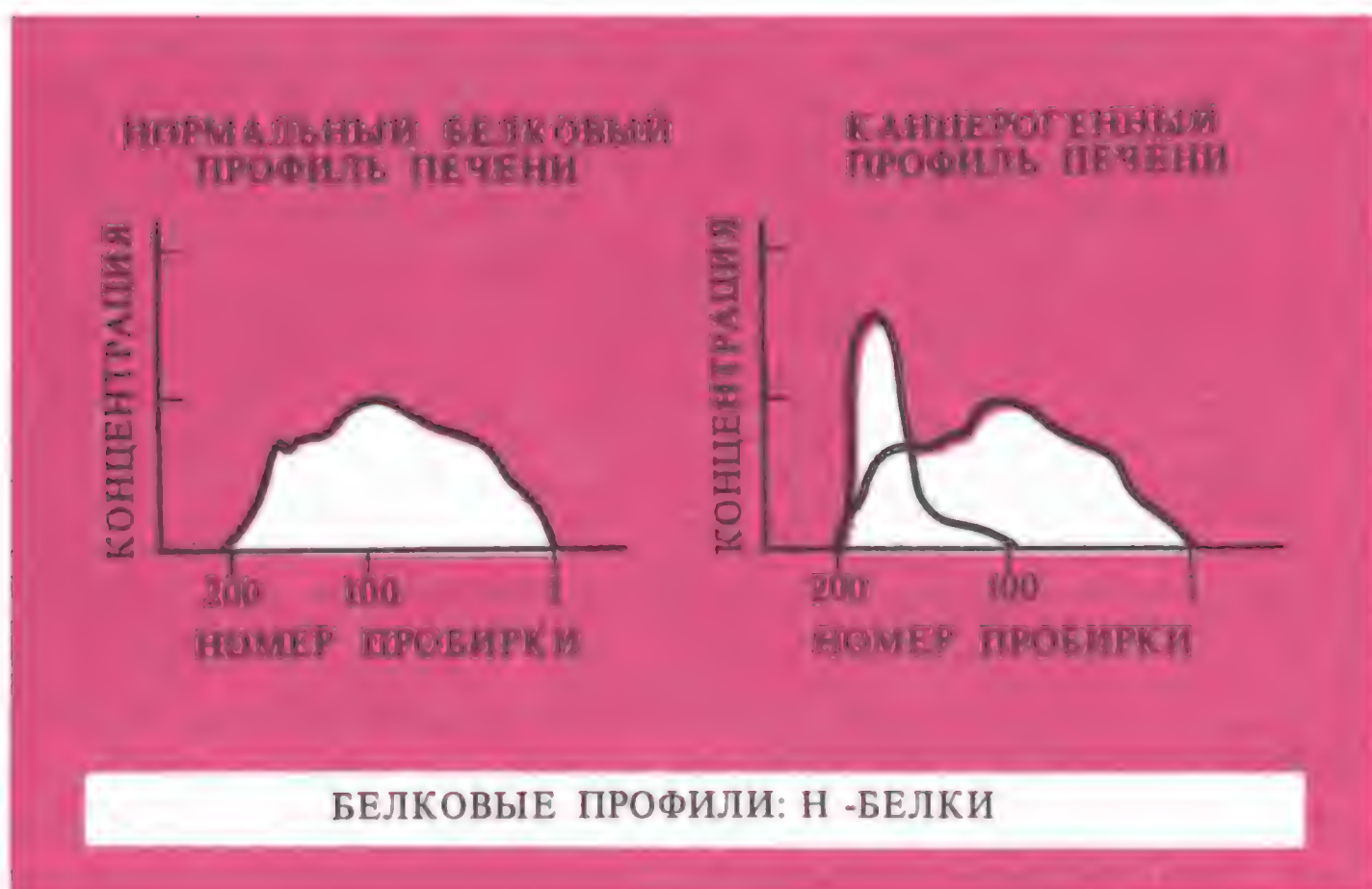
Такое разделение может быть, в частности, произведено на колонке (зональный электрофорез, фиг. 7). Белки, подлежащие разделению, помещают на колонку, заполненную подвергнутой специальной химической обработке целлюлозой, и через колонку пропускают электрический ток. Обычно нижняя часть колонки служит положительным полюсом, поэтому белки тем быстрее опускаются вниз по колонке, чем больше их отрицательный заряд. Спустя некоторый промежуток времени напряжение снимают, но за это время отдельные белковые фракции успевают разделиться по зонам. Затем колонку промывают (элюируют), а содержимое различных зон собирают в отдельные пробирки.

На фиг. 8 показана так называемая диаграмма элюции (вымывания) после электрофореза белков нормальной печени. По оси ординат отложены значения оптической плотности элюата при 280 нм (мера концентрации белка) каждой фракции. Легко заметить, что разделение прошло не полностью: виден перехлест фракций. Характерным пикам была присвоена алфавитная, а недостаточно разделенным, сливающимся пикам — дополнительная цифровая классификация.

Электрофореграмма была снята с белков печени крыс, которым с пищей скармливали канцерогенный азокраситель 3'-метил-ДАБ (Зороф). На фиг. 8 показаны результаты этого эксперимента; на графике отложена не только оптическая плотность при 280 нм (концентрация белка), но и оптическая плотность при 525 нм элюата после добавления муравьиной кислоты (концентрация красителя). Красным



Ф и г. 7.



Ф и г. 8.

показана оптическая плотность при 525 нм. Краситель обнаруживается преимущественно во фракциях 130—140, соответствующих так называемым h_2 -белкам.

В гепатомах h_2 -белков значительно меньше

Аналогичным способом были проанализированы белки опухолей печени. Как оказалось, во всех исследованных гепатомах (не только в гепатомах, вызванных азокрасителями) h_2 -белки содержатся в значительно меньшей концентрации, чем в здоровой печени. Не составляют исключения и медленно растущие гепатомы Морриса, которые мало отличаются от нормальной печени.

Все сказанное выше позволяет суммировать данные по связыванию канцерогенных красителей белками печени:

а) обнаружена тесная зависимость между канцерогенной активностью и связыванием белками;

б) красители связываются преимущественно определенным классом белков — так называемыми h_2 -белками;

в) содержание h_2 -белков и соответственно интенсивность связывания красителя сильно снижены в гепатомах.

Эти данные легко объяснить, исходя из простых допущений:

1. Если h_2 -белки — регуляторы роста, то следует ожидать, что их содержание в гепатомах должно быть снижено.

2. Все вещества, которые могут специфически реагировать с этими белками, должны быть канцерогенами.

Вскоре после того как Миллеры открыли связывание азокрасителей белками печени и отсутствие такого связывания белками гепатомы, они сформулировали теорию, ныне известную как «гипотеза исчезновения белка». Согласно этой теории, опухолевые клетки отличаются от нормальных тем, что в них отсутствуют вещества, регулирующие нормальный рост. Следовательно, злокачественное превращение клетки печени можно, по-видимому, объяснить исчезновением h -белков. Из такого вывода непосредственно исходит следующая предпосылка для эксперимента: если h -белки и в самом деле регуляторы роста, то возможно подавить рост некоторых клеток, изготовив препараты из этих белков.

h_2 -Белки подавляют рост клеточных культур (*in vitro*)

Впервые эту попытку предпринял Зороф. Используя клетки HeLa (клетки опухоли человека) и L-клетки (полученные из фибробластов мыши), он добавлял к их культурам обогащенные h -белками фракции. Рост клеток действительно подавлялся. Более того, подавление было обратимым: как только h -белки отмывали, клетки начинали расти с прежней скоростью. Последнее обстоятельство исключало тривиальное допущение о том, что h -белки просто токсичны и убивают клеточные культуры.

Эксперимент Зорофа знаменовал собой достижение апогея в истории с h -белками. Судя по всему, h -белки играют решающую роль в превращении нормальной клетки в опухолевую. Но вслед за тем появились возражения: h -белки должны подавлять рост только клеток печени, ведь регулятор роста печени должен быть для них специфичен. Однако ни HeLa, ни L-клетки не относятся к клеткам печени. Ученые заподозрили, что обнаруженное Зорофом подавление вызывается какой-то более простой причиной. И действительно, позже было обнаружено, что ингибиторное действие h -белков вызвано наличием в них аргиназы. Этот фермент расщепляет необходимый для роста клеток аргинин, находящийся в питательной среде, и в результате клетки голодают. Добавление аргинина компенсировало ингибиторное действие h -белков.

Этим дело не ограничилось: особая роль h -белков подверглась сомнению, так как выяснилось, что в ядре клетки канцерогенные красители связываются главным образом альбуминоподобными белками. Более того — и это нанесло поистине тягчайший удар гипотезе связывания белками, — оказалось, что канцерогенные амины реагируют и с нуклеиновыми кислотами (Маррокэн и Фарбер, Робертс и Уорвик). Здесь мы сталкиваемся с проблемой: какие же реакции стратегически важны — реакции связывания белками, РНК или ДНК? Бесспорно, львиная доля связывания происходит за счет h -белков. По-видимому, их высокую специфичность можно объяснить, не прибегая к чересчур хитроумным приемам, лишь так: h -белки и активирующие ферменты должны быть идентичными; активированные, реакционноспособные производные азокрасителей должны вступать во взаимодействие со своими ближайшими парт-

нерами, то есть именно с этими ферментами. Однако до сих пор эта гипотеза не нашла подтверждения (Зороф, Кеттерер). Нам остается лишь констатировать, что сейчас мы не располагаем сколько-нибудь удовлетворительными объяснениями возможной функции h_2 -белка.

Связывание канцерогенов ДНК вряд ли играет какую-либо роль в количественном отношении, но оно отлично «вписывается» в теоретические схемы современной биологии. Замечательная способность опухолевых клеток «постоянно порождать опухолевые клетки» даже в отсутствие внешнего канцерогена легко объясняется: любое изменение генетического материала (ДНК) неизбежно передается дочерним клеткам. Тем самым опухолевые клетки должны генетически отличаться от нормальных клеток: таков, казалось бы, очевидный вывод. Но, по сути, это всего лишь удобный вывод. Дальнейшие замечания и более свежие сведения по ДНК и раку приведены в отдельной главе, специально посвященной этому вопросу (стр. 238).

Заключение

Канцерогенные ароматические амины (N,N-диметил-4-аминоазобензол и другие аминазокрасители, β -нафтил-амин, бензидин, 2-ацетиламинофлуорен), активируются до эффективных форм посредством гидроксирования. Эта реакция может протекать как по ароматическому кольцу, так и по аминогруппе. Реакция N-гидроксирования, по-видимому, играет самую важную роль: N-оксиамины (амиды) в большинстве случаев более сильные и более многосторонние канцерогены, чем исходные амины; Миллеры называли их «непосредственным канцерогеном». Продукты этерификации N-оксиамидов взаимодействуют *in vitro* с компонентами клетки, такими, как метионин. И в самой клетке эфиры сульфатов могут быть активной формой канцерогенных ароматических амидов. В тех случаях, когда амины оказываются более канцерогенными, чем соответствующие амиды, или в случае, когда у животных амиды не обнаружены, «окончательным канцерогеном», видимо, оказывается N-оксиамин.

Канцерогенные ароматические амины связаны преимущественно особым классом растворимых белков (h -белки). Канцерогенность и связывание белками хорошо коррелируют друг с другом, а содержание h -белков оказывается

резко сниженным в гепатомах. Согласно «гипотезе исчезновения», *h*-белки обладают регуляторным воздействием на рост. Потеря клеткой *h*-белков должна быть непосредственной причиной неконтролируемого роста опухолей. И действительно, обработка клеточных культур препаратами *h*-белка ведет к обратимому подавлению роста. Однако загрязняющий препараты фермент аргиназа оказался активным компонентом, поскольку он разрушает аргинин, необходимый для роста клеток.

Канцерогенные ароматические амины взаимодействуют не только с белком, но и с нуклеиновыми кислотами. Связывание канцерогена ДНК сегодня рассматривают как решающий фактор канцерогенеза.

Более внимательный взгляд на химический канцерогенез: количественные аспекты

«Я утверждаю, что в каждой естественной науке ровно столько от науки вообще, сколько в ней математики», — говорил Кант задолго до лорда Кельвина. Химия того времени не подошла под строгую мерку ученого: «...химия никогда не станет настоящей наукой: в самом лучшем случае она будет искусством систематизирования или постановки экспериментов». Однако химия уже давно переросла мерку Канта, а в ее теоретический фундамент заложены основы термодинамики и атомной физики.

Даже современные биология и научная медицина все чаще рассматриваются как точные науки. Восхищение феноменом живого до сих пор остается важным стимулом биологических исследований, но с *vis vitalis* и *vis regenerativa* ученые уже распрощались — с сожалением и облегчением одновременно. Победителем стала простая молекула ДНК, а в описании таких биологических явлений, как наследственность и адаптация, решающее слово принадлежит кибернетике. Следует признать, что исследования рака в значительной мере остаются «искусством систематизирования», и мы еще не преуспели в построении в целом приемлемой и повсеместно принятой теории. Однако нельзя сказать, чтобы онкология полностью пренебрегала математикой. Количественные исследования химических канцерогенов дали первый толчок к появлению «математической теории» развития опухоли.

В течение длительного времени ученые ограничивались делением веществ на слабые и сильные канцерогены. Еще в 1948 г. Бэджер пользовался простой полуколичественной системой классификации химических канцерогенов:

Очень сильный канцероген		++++
Сильный	»	+++
Умеренный	»	++
Слабый	»	+
Неактивный	»	0

Но даже он вынужден был признать, что из-за трудностей биологических исследований точность определения может колебаться в пределах одного «плюса». Из этого следовало, что при повторении теста на канцерогенность вещество можно классифицировать и как слабый, и как неактивный канцероген. Твердо сказать, является ли данное вещество канцерогеном, чрезвычайно трудно; вновь и вновь необходимы исследования на большем числе животных и с более высокой дозой предполагаемого канцерогена. О том, насколько осторожно следует выносить «окончательное суждение», свидетельствует недавняя дискуссия о новых противозачаточных препаратах (эстроген) и искусственных подсластителях (цикламат). Проблема пограничной активности до сих пор не решена.

Зато разрешима, по крайней мере принципиально, проблема замены прежних качественных показателей активности количественными. Многие авторы разработали свою собственную систему (например, Беренблум и Миллеры), но самым известным примером служит так называемый индекс Айболла, предложенный американским ученым Айболлом в 1939 г.

Индекс Айболла

Рассмотрим два варианта исследования канцерогенов на примере экспериментального рака кожи: мышей одного возраста, пола и штамма разделяют на группы, по 30 мышей в каждой. 0,3% -ный раствор испытуемого вещества наносят на выбритую спинку мыши (растворителем может быть бензол, ранее использовавшийся чаще всего, хотя теперь известно, что ацетон меньше влияет на кожу). Нанесение вещества повторяют дважды в неделю, пока не появятся первые видимые глазом папилломы и их можно будет сосчитать. В табл. 2 описан такой опыт с двумя различными органическими веществами.

Таблица 2

Параметры канцерогенной активности

Вещество	Количество мышей с опухолями, %	Средний латентный период, дни	Индекс Айболла
ДМБА	65	43	157
1,2,5,6-Дибензакридин	24	350	7

Легко заметить, что рассматриваемые вещества ведут себя по-разному: ДМБА вызывает опухоли в среднем уже на 43-й день и поражает 65% мышей, в то время как дибензакридин индуцирует опухоли лишь у 24% мышей, причем на это требуется почти годичный период.

«Сильный» канцероген отличается двумя признаками: он способен вызвать опухоли у большего числа животных и за более короткий промежуток времени.

Это означает, что количество возникших опухолей, так же как и латентный период, может служить мерилom канцерогенной активности. На этом основании Айболл предложил следующее уравнение в качестве индекса канцерогенности:

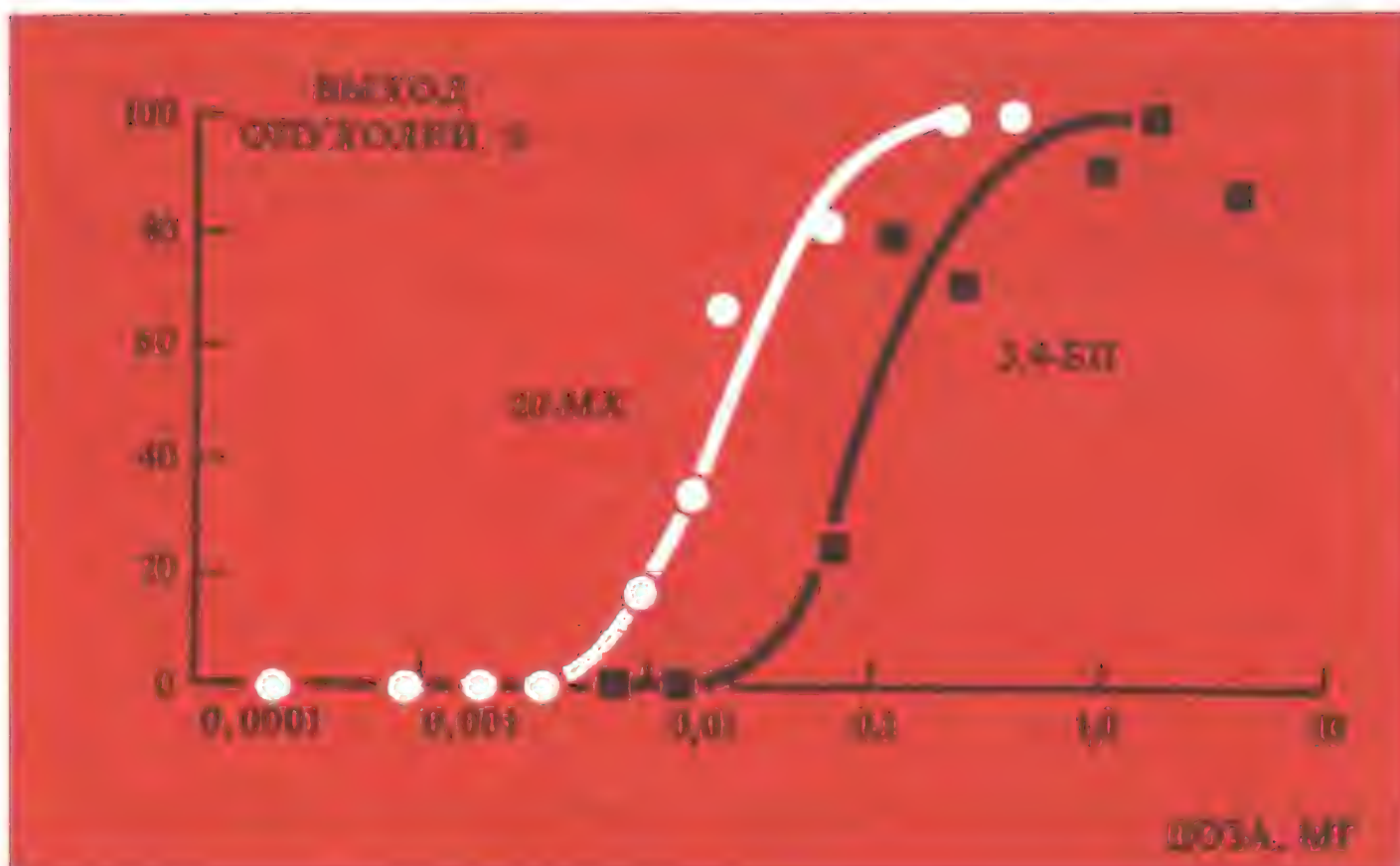
$$И_{канц} = \frac{\text{Образование опухолей (\%)}}{\text{Латентный период (дни)}} \times 100 = \frac{A}{L} \times 100,$$

где множитель 100 добавлен просто для перехода к целым числам. Количественные данные, полученные с помощью этого уравнения, представлены в последней колонке табл. 2.

Очевидно, что приведенные цифры применимы лишь к данной системе: рассчитанные индексы верны только для мышей данного штамма, причем соединения должны наноситься на кожу. Если цель эксперимента — сравнение способности этих двух соединений вызывать саркомы у крыс после подкожного введения, то, вероятно, следует ожидать иной канцерогенной активности и соответственно иных индексов. Так, ДМБА — очень сильный канцероген при нанесении на кожу мышей, но при индуцировании саркомы у крыс он дает средние показатели. Вряд ли нужно добавлять, что недостаточно просто сравнивать 0,3%-ные растворы канцерогенов, ибо сильный канцероген эффективен при низких дозах, а слабый должен применяться в высокой концентрации. Если ограничиться одной какой-либо концентрацией, возникает опасность недооценить сильные канцерогены. Вот почему так важно установить соотношение доза — ответ для каждого канцерогена.

Кривые соотношения доза — ответ

Между инъекцией канцерогена и возможным развитием пальпируемой опухоли может пройти не один месяц. Тем не менее точные кривые соотношения доза — ответ могут быть получены даже для канцерогенных активностей с



Ф и г. 9.

учетом того, что биологические показатели (вид, штамм, пол, возраст, пища и т. д.) остаются постоянными.

На фиг. 9 представлен случай, описанный Брайнером и Шимкиным: канцерогенные углеводороды в указанных на оси абсцисс количествах подкожно вводили мышам и подсчитывали случаи развития сарком в месте однократного введения. Как видно из графика, 0,1 мг метилхолантрена достаточно, для того чтобы саркома развилась в 100% случаев. Для получения такого же эффекта бензипирена требуется раз в 10 больше.

Обычно опухоли не могут быть вызваны однократной обработкой животного. Как правило, нужно скормливать канцероген с пищей длительное время, чтобы вызвать, например, рак печени. Однако даже в случаях «хронического» скормливания прослеживается вполне четкая математическая зависимость. Рассмотрим случай индуцирования гепатом у крыс при скормливании им ДАБ (см. стр. 42). Этот пример был количественно проанализирован в 1948 г. Друкри [13] и Кюпфмюллером. Результаты сведены в табл. 3.

Последняя колонка в таблице не может не вызвать удивления. При суточной дозе как 3, так и 30 мг ДАБ на 1 крысу суммарная доза, необходимая для возникновения гепатомы, в каждом случае составляла около 1 г. При более низкой суточной дозе для достижения суммарной дозы

**Индукция рака печени при ежедневном скормливании
N,N-диметил-4-аминоазобензола (ДАБ)**

Суточная доза ДАБ, мг	Латентный период, дни	Суммарная доза, мг
30	34	1020
20	52	1040
10	95	950
5	190	950
3	350	1050
1	700	700

требовалось около года; при высоких дозах опухоли печени развивались через месяц. Полученные данные можно представить в виде формулы: $D=dt$, где D — суммарная доза, d — суточная доза и t — время.

Итак; воздействие ДАБ (способность вызывать опухоли) определяется суммированием отдельных доз («эффект суммации»). Как видно из результатов, первичное канцерогенное воздействие всех отдельных доз независимо от того, насколько они малы, сохраняется и суммируется на протяжении всей жизни подопытного животного, давая в сумме «индукцию опухоли» (Друкри).

Канцерогенные воздействия необратимы

По-видимому, ткань, а точнее, клетки ткани, не может оправиться от «канцерогенного действия» химического канцерогена. Если бы «процесс выздоровления» играл решающую роль, то имело бы значение время скормливания канцерогена животным в каждом конкретном случае: при длительных периодах скормливания (низкие дозы) процесс выздоровления был бы выражен отчетливее, чем при коротких. Поскольку, несмотря на разницу латентных периодов, опухоль развивается по достижении все той же общей дозы, отсутствие таких реакций не вызывает сомнения. Следовательно, воздействие ДАБ на клетки печени необратимо.

ДАБ — далеко не единичный случай. Многочисленные исследования вновь и вновь подтверждают необратимость воздействия канцерогенов. На это указывает и факт воз-

никновения опухолей после однократного действия канцерогена (как при подкожной инъекции канцерогенных углеводов). Но явление необратимости возможно убедительно продемонстрировать и в опытах с хроническим воздействием канцерогенов. В одном из таких опытов Шмель изучал действие диметиламиностильбена, недавно открытого канцерогена, с неумолимой точностью вызывающего опухоли ушного прохода у крыс. Эти разрастания пальпировались у всех подопытных животных почти одновременно (на протяжении пяти дней скармливания).

«Одной группе крыс ежедневно скармливали канцероген в дозе 1 мг/кг до возникновения опухоли ушного прохода. Другой группе попеременно на протяжении одной недели ежедневно давали двойную дозу (2 мг/кг), а на протяжении следующей — пищу без канцерогена. Обе группы в сумме получали одинаковую общую дозу. Если бы процесс выздоровления при канцерогенезе был возможен, то он проявился бы в то время, когда крысы не получали канцерогена, и для этой группы животных потребовалась бы более высокая общая доза, чем для группы, которая получала канцероген без перерыва. Однако этого не произошло: средние общие дозы в обеих группах практически оказались равными и составляли в эксперименте с постоянным скармливанием канцерогена 373 ± 75 мг/кг, а в опытах с чередующимся скармливанием — 348 ± 70 мг/кг. Следовательно, проведенный эксперимент подтвердил необратимость канцерогенного воздействия» (Шмель [35]).

Все сказанное выше позволяет сделать следующий вывод: химический канцероген характеризуется эффектами суммации и необратимости, хотя в количественном отношении эта характеристика не является исчерпывающей. Время также относится к числу важных факторов канцерогенеза, не зависящих от конкретного канцерогена.

Канцерогенез — процесс ускоренный

Даже при количественном анализе возникновения опухолей под действием ДАБ (см. табл. 3) поражает, что при очень низких дозах (1 мг/кг) общая суммарная доза, необходимая для образования опухоли, крайне мала. Требуется всего лишь 700 мг вместо 950—1050 мг. Такое снижение общей дозы (при меньших суточных дозах) с гораздо большей четкостью проявляется в случае других канцерогенов. Для диэтилнитрозамина (еще один канцероген, вызывающий гепатому) суточная доза пропорциональна общей — чем меньше одна, тем меньше другая. В этом случае формула, выведенная для ДАБ ($D=dt$), не подходит.

Здесь уместнее формула $d \cdot t^2 = \text{const.}$ Иными словами, суточные дозы не просто суммируются по времени для достижения постоянной общей дозы, а учитывается само время — оно вносит собственный вклад в возникновение опухоли.

Для описания этого процесса пользуются терминами «амплификация»¹ и «ускоренные реакции», а последнее уравнение по существу напоминает хорошо известную из классической физики формулу свободного падения:

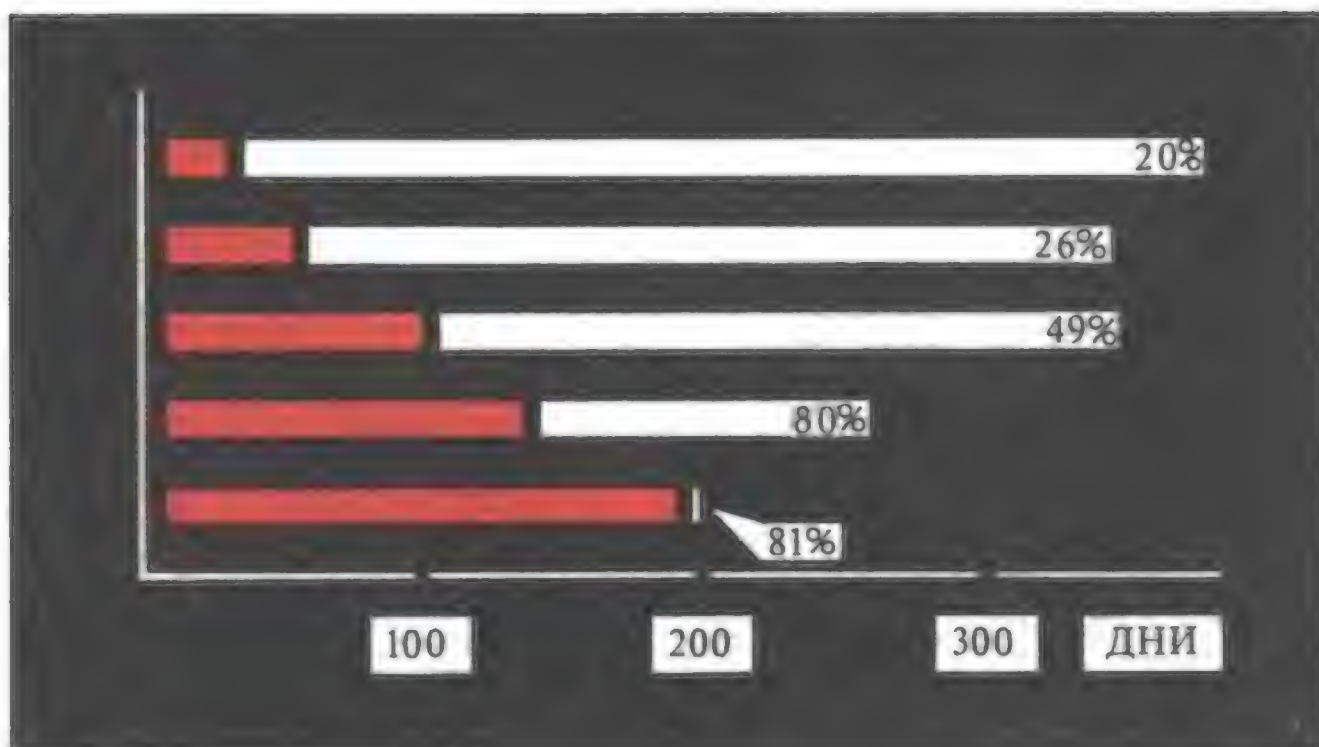
$$S = \frac{g}{2} t^2 ,$$

где S — путь, пройденный падающим телом, g — ускорение силы тяжести, а t — время. Рассмотрим эти понятия механики применительно к канцерогенезу. Тогда t — время скармливания, $g/2$ — суточная доза и, наконец, S — «путь опухоли», который, естественно, короче, если процесс ускоряется.

Итак, канцероген можно уподобить «силе», которая постоянно воздействует на клетку-мишень. И если в механике приложенная сила вызывает ускорение, то химический канцерогенез по аналогии можно представить как «ускоренный процесс». Согласно физическим законам, прекращение воздействия силы не останавливает движения; снимается ускорение, но тело продолжает двигаться с постоянной скоростью. Если применить эти законы к канцерогенезу, то можно сказать, что опухоль будет развиваться, даже если добавлять канцероген в пищу очень непродолжительное время. На фиг. 10 графически представлен так называемый «стоп-эксперимент», проведенный Друкри с ДАБ. Опыт подтвердил необратимость действия канцерогена, поскольку даже после того, как скармливание канцерогена прекращается, его воздействие продолжается. Правда, чем короче период скармливания, тем позднее возникают гепатомы, но этого и следовало ожидать: если ускоряющее длительное скармливание прекращается, то канцерогенез продолжает развиваться с постоянной скоростью.

Логично допустить, что канцерогенный процесс возникает в результате одного какого-то «толчка» (в физике это называется количеством движения). Так оно и происходит.

¹Амплификация — расширение, усиление. — Прим. перев.



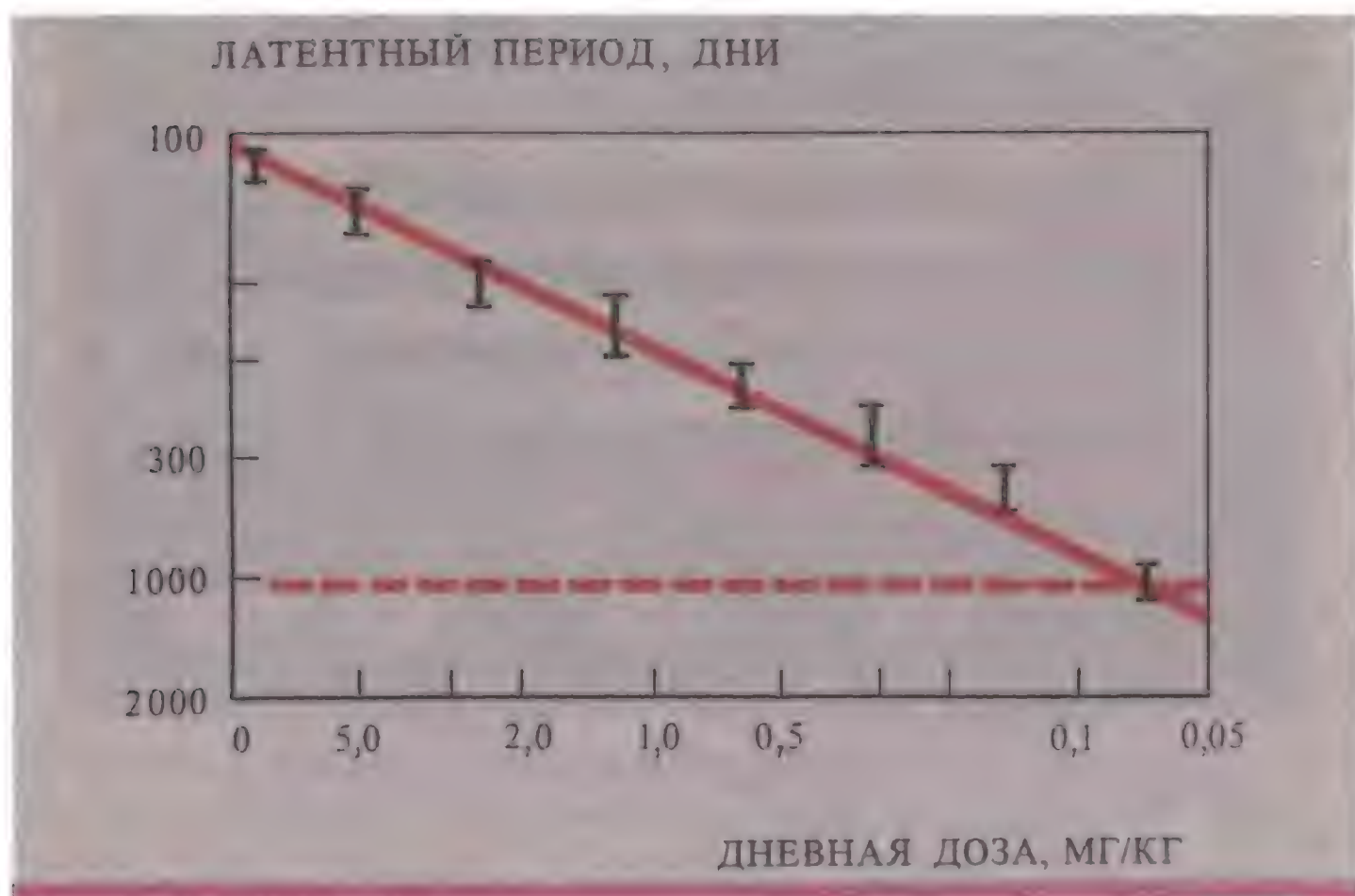
Ф и г. 10.

Мы уже отмечали несколько случаев, когда опухоли индуцируются однократным действием канцерогена.

Итак, мы вправе рассматривать канцерогенез как своего рода ускоренный процесс, сходный с ускоренным движением, описываемым классической механикой. Однако возникновение опухоли и свободное падение — явления совершенно различные, и мы скоро убедимся в ограниченности проводимой аналогии.

Субпороговых канцерогенных доз не существует

Вернемся к процессу индуцирования гепатом диэтилнитрозамином. Мы уже упоминали о существовании связи между величиной суточной дозы и латентным периодом, которая выражается формулой $dt^n = \text{const}$. Если прологарифмировать это выражение, то получим $\log d = \text{const} - n \log t$. Из этого уравнения очевидно, что при построении графика зависимости $\log t$ (латентный период) от $\log d$ (суточная доза) получится прямая линия. Из фиг. 11 следует, что уравнение выдерживается четко. Экспериментально полученные точки лежат на прямой линии даже в случае очень низких суточных доз, что позволяет сделать важный вывод: вполне возможно, что достаточно малые дозы способны вызвать рак. Иными словами, субпороговых канцерогенных доз не существует. Правда, при очень низких дозах латентный период может быть столь продолжительным, что подопытное животное умрет естественной смертью до того, как у него разовьется опухоль.



Ф и г. 11.

По наклону прямой на графике фиг. 11 можно рассчитать экспоненту n приведенного выше уравнения. В этом случае $n=2,3$, так что для гепатоклеточных карцином, вызываемых диэтилнитрозамином, $dt^{2,3} = \text{const}$. Полученное выражение достаточно хорошо согласуется с «теорией акселерации»; то же относится и к другим нитрозаминам. Для ди- n -пропилнитрозамина $n=2,2$ а для эфиров N-нитрозосаркозина эта величина составляет 2,5. Однако для ряда других канцерогенов $n \geq 2$.

Канцерогены различаются по своему ускоряющему действию

Рассмотрим несколько канцерогенов и сравним их экспоненты n для последнего уравнения. Канцерогенез под воздействием ДАБ, как мы уже установили выше, следует закону простой суммации, за исключением очень низких доз. Одной и той же суммарной дозы канцерогена можно достигнуть независимо от продолжительности латентного периода. Такая независимость от временного фактора означает, что $n=1$.

Для диметиламиностильбена расчетная величина $n = 3,0$; бензпирен дал «наклон» $n = 4,0$ при нанесении на

кожу три раза в неделю. Некоторые канцерогенные углеводороды при подкожном введении дают величину $n=4,7$.

В эту схему укладываются и данные по опухолям человека. Как установил Нордлинг, смертность от рака пропорциональна возрасту в 6-й степени (данные получены на основании общей статистики рака из Англии, Франции, Норвегии и США). Долл приводит сходные данные, полученные при анализе случаев рака легкого у курильщиков. В этом случае смертность от рака пропорциональна времени в 5-й — 6-й степени. «Это доказывает,— пишет Друкри,— что канцерогенез при продолжительном воздействии канцерогена как на основании опытных данных с животными, так и по статистическим данным опухолей человека подчиняется той же зависимости от дозы и времени» (табл. 4).

Таблица 4

Роль времени в химическом канцерогенезе

Факторы ускорения			
вещество	вид животного	орган	<i>n</i>
ДАБ	Крыса	Печень	1,1
Ди- <i>n</i> -бутилнитрозамин	»	Мочевой пузырь	1,4
Диэтилнитрозамин	»	Печень	2,3
Этиловый эфир N-нитрозосаркозина	»	Кишечник	2,5
Диметиламиностильбен	»	Ушной проход	3,0
3,4-Бензпирен	Мышь	Кожа	4,0

Биологическое значение ускорения

Ньютоново ускорение, в том виде, как оно сформулировано выше, несовместимо с теми величинами экспонент, которые выводятся на основе уравнения доза — латентный период. Это и не удивительно, если учесть, что взаимодействие в системе клетка — организм — канцероген имеет лишь поверхностное сходство со свободным падением по Галилею. Рассмотрим несколько возможных объяснений ускорения в канцерогенезе:

1. Предположим, что канцероген вызывает два основных действия: индуцирует опухолевые клетки и способствует их размножению. Тогда при допущении некоторых

ограничивающих условий это, естественно, ведет к закону типа $D=dt^n$.

2. При низких дозах и соответственно длительных латентных периодах время развития опухоли продлевается до достижения животным преклонного возраста. В результате появляется больший риск заболеть раком. Ниже мы обсудим, что подразумевается под повышенным риском с биологической точки зрения. В данной связи это дает нам возможность объяснить, почему кумулятивно при более продолжительных латентных периодах требуется меньше канцерогена.

3. Допустимо сравнение фактора времени с действием канцерогена. Например, канцероген вызывает усиленное деление клетки, но деление клеток в ткани происходит и само по себе. Следовательно, чем длиннее латентный период, тем больше естественных делений клетки и тем меньше требуется канцерогена.

4. По существу, все канцерогены токсичны, то есть способны убить клетку. Это означает, что при особо высоких суточных дозах клетки погибают. Иными словами, канцероген мешает самому себе. В этом случае при высоких суточных дозах требуется больше канцерогена, чем при низких.

5. Если токсический эффект канцерогена направлен в первую очередь против нормальных клеток, значит, «резистентные» опухолевые клетки получают преимущества в селекции при воздействии канцерогена. Эта селекция также может вносить свой вклад в ускорение процесса канцерогенеза.

Перечисленные примеры демонстрируют, какие сложные взаимодействия могут осуществляться в системе клетка — организм — канцероген и насколько запутанной может оказаться временная зависимость индуцирования опухоли. Мы опустим математическую интерпретацию этой проблемы и закончим главу возвращением к вопросу, что же такое сильный канцероген.

**Латентный период и эффективность канцерогена
могут не зависеть друг от друга**

Как мы уже неоднократно отмечали, сильный канцероген способен вызвать большое число опухолей за короткое время и при низких дозах. Казалось бы, логично предпо-

ложить, что высокий «выход» опухолей и непродолжительный латентный период взаимосвязаны. Однако, чем больше данных по химическому канцерогенезу, тем яснее, что продолжительность латентного периода и выход опухолей вовсе не обязаны сочетаться друг с другом. Но это означает, что канцерогенный эффект какого-то ненасыщенного полициклического углеводорода проявляется по меньшей мере двояко: с одной стороны, он определяет число возникающих опухолей, а с другой, устанавливает время, необходимое для их проявления. Эти два канцерогенных компонента особенно легко различимы при индуцировании опухолей кожи у мышей; поэтому мы и обратимся теперь именно к этой специальной области.

Заключение

Несмотря на длительные латентные периоды в развитии опухолей, имеются четкие соотношения доза — ответ. Из этих соотношений не следует, однако, что для химических канцерогенов существуют пороговые дозы, ниже которых они не оказывают действия.

Действие химических канцерогенов необратимо. Даже время вносит свой уникальный «вклад» в канцерогенез, при этом вместо простого суммирования суточных доз обычно наблюдается ускорение.

Латентный период и выход опухолей могут не сочетаться.

Многоступенчатая гипотеза химического канцерогенеза

Со времени первых исследований Ямагивы на ухе кролика кожа не раз становилась объектом изучения искусственно вызванного канцерогенеза. Причины тому очевидны: за кожей легко наблюдать, с ней легко работать, а для нанесения любого канцерогенного вещества достаточно простой пипетки. Не менее важно и то обстоятельство, что развитие опухолей можно наблюдать визуально. Нет необходимости в пальпации или аутопсии; внимательного наблюдения достаточно, чтобы установить, возникли опухоли на спинке мыши или на ухе кролика (и если да, то сколько).

Эксперимент Беренблума — Моттрама:
два этапа в развитии папиллом

Для индуцирования опухолей кожи обычно достаточно нанести 0,1 мл 0,3%-ного раствора метилхолантрена, бензпирена или диметилбензантрацена (ДМБА) в ацетоне на выбритые спинки мышей по одному или несколько раз в неделю. Можно даже вызвать папилломы и карциномы одной большой дозой, хотя процент образования опухолей при этом будет весьма низким. Помимо «классических» методов, существуют и более тонкие способы образования опухолей кожи:

1. Мышам наносят на кожу или скармливают канцерогенный углеводород (25 мкг на спинку или 1 мг при скармливании) в дозе, недостаточной для индуцирования опухолей на протяжении нормального жизненного цикла подопытных животных.

2. После этого мышам еженедельно наносят на спинку 0,5%-ный раствор кртонового масла (масло семян тропического растения *Croton tiglium*). Примерно через восемь недель начинают визуально обнаруживаться первые папилломы. Если кртоновое масло наносят без предварительной

обработки животного канцерогеном, то опухоли не возникают. Следовательно, кротоновое масло в этих условиях не является канцерогеном.

Эксперимент впервые был осуществлен Моттрамом, а позднее усовершенствован и в больших масштабах поставлен Беренблумом. Было показано, что комбинация двух неканцерогенных компонентов может привести к возникновению опухолей:

Субпороговая единичная доза канцерогена +
+ Неканцерогенное кротоновое масло —→ Опухоль.

Напрашивается сравнение с процессом фотографирования: как известно, после экстенсивной экспозиции свет вызывает изображение на светочувствительной пластинке. Однако обычно пластинку экспонируют лишь в течение очень короткого промежутка времени («субпороговая доза»), чтобы вызвать появление скрытого изображения, а затем происходит химическое проявление активированных зерен соли серебра до видимых зерен металлического серебра. Следовательно, в принципе субпороговое освещение в сочетании с химическим проявлением приводит к тому же конечному результату, что и экстенсивная экспозиция сама по себе.

Все сказанное позволяет интерпретировать эксперимент Беренблума — Моттрама следующим образом: ДМБА или какой-то другой канцерогенный углеводород индуцирует возникновение скрытых опухолевых клеток, которые затем проявляются и под воздействием кротонового масла образуют опухоль. Возникновение скрытых опухолевых клеток обычно называют инициацией, а индуцирование подлинной большой опухоли — промоцией¹. Инициацию можно уподобить субпороговому освещению фотопластинки, в то время как активация (эффект кротонового масла) соответствует ее химическому проявлению.

Если мы сначала проявим фотопластинку и лишь затем подвергнем ее воздействию света, изображения, разумеется, не будет. Беренблум поставил аналогичный эксперимент с кротоновым маслом и канцерогенным углеводородом и обнаружил, что оба компонента при воздействии в обратной последовательности не ведут к образованию опухолей.

¹Термин «промоция», что означает «подстрекательство», очень удачно отражает процесс, но не принят в отечественной научной литературе. Советские ученые (Р. Е. Кавецкий) эту фазу канцерогенеза называют «активацией». — *Прим. ред.*

Активатором может быть не только кротоновое масло

Хотя кротоновое масло и привело к открытию активации латентных опухолевых клеток, оно вовсе не является единственным веществом, способным к этому. Такое же действие могут оказывать моющее средство «Твин», антралин (1,8,9-3-оксиантрацен) и различные фенолы. «Полные канцерогены», по-видимому, могут и инициировать, и активировать (например, канцерогенные углеводороды), но при однократной низкой дозе их эффект ограничивается инициацией.

Приведенная гипотеза позволяет предсказать существование веществ, способных только инициировать, но не активировать,— их можно рассматривать как добавки к кротоновому маслу. Такое вещество было открыто: им оказался уретан (этилкарбамат), который является чистым инициатором для кожи мыши. У мышей, спинки которых обрабатывали уретаном и в течение нескольких недель смазывали кротоновым маслом, замечено образование папиллом. Один же уретан, даже при продолжительном нанесении, не вызывает развития опухолей кожи. Итак, можно индуцировать опухоли комбинацией двух явно неканцерогенных веществ.

Раздражение и канцерогенез

А теперь проследим, каким образом Беренблум дошел до этой гипотезы. Он начал вовсе не с количественных соответствий латентных периодов и «выхода» опухолей; его просто заинтересовал вопрос: имеет ли раздражение, как таковое, какое-либо отношение к канцерогенезу?

Большинство канцерогенов принадлежит к числу веществ, которые в достаточно больших дозах вызывают раздражение ткани, так что это не был праздный вопрос. Многие ученые не сомневались, что между раздражением ткани и появлением опухоли имеется явная зависимость. Раздражение кожи проявляется гиперплазией (см. фиг. 52): рост числа клеточных делений призван компенсировать утрату поврежденных клеток. Таким образом, вопрос, поставленный Беренблумом, можно сформулировать так: имеет ли гиперплазия какое-либо отношение к канцерогенезу? Вот что пишет по этому поводу сам исследователь:

«Сначала мы проверили на канцерогенность различные простые раздражители. Все они вызывали гиперплазию кожи мышей, но не образование опухолей. Очевидно, раздражение само по себе не способно к канцерогенному эффекту.

Затем мы применили различные неканцерогенные раздражители совместно с канцерогеном, чтобы выяснить, не усиливается ли от дополнительного раздражения канцерогенный эффект. Результаты оказались обескураживающими. Одни раздражители, особенно горчичный газ (иприт — отравляющее вещество, использованное во время первой мировой войны) и кантаридин, при нанесении в сильно разведенных растворах, способных лишь вызвать очень слабое кожное раздражение, резко ослабляли канцерогенный эффект (то есть проявляли антиканцерогенное воздействие), в то время как другие раздражители, особенно кротоновое масло, резко усиливали канцерогенный эффект (то есть оказывали коканцерогенное действие). Большая же часть раздражителей вообще не оказывала никакого воздействия. Поэтому казалось, что раздражение не является решающим фактором в канцерогенезе даже в том случае, если имеются другие, более действенные факторы».

Тем не менее Беренблум решил сделать еще одну попытку:

«На следующем этапе, проводя общий курс обработки подопытных животных канцерогеном, мы заменили канцероген неканцерогенным раздражителем лишь на короткий период... В качестве раздражителя использовали кротоновое масло. Как оказалось, при нанесении этого вещества на протяжении нескольких месяцев перед обработкой канцерогеном ни ускоренного развития опухолей, ни повышения «выхода» опухолей не наблюдалось, между тем как при нанесении после неполного курса канцерогенной обработки «выход» опухолей резко повысился».

Этот эксперимент непосредственно предшествовал (по протоколу) эксперименту Моттрама, который в качестве последнего логического звена в развитии экспериментальных систем позволил сделать следующий вывод: возникновение рака кожи — процесс двухступенчатый. Опухоли легкого также могут быть индуцированы в ходе процедуры, которая, по крайней мере технически, состоит из двух этапов. Однако, прежде чем вплотную перейти к рассмотрению этой экспериментальной процедуры, вернемся еще раз к вопросу, который с самого начала задал Беренблум: имеет ли раздражение какое-либо отношение к канцерогенезу, или (в особом случае эксперимента с раком кожи) имеет ли гиперплазия какое-либо отношение к возникновению опухолей?

Но этот вопрос следует сформулировать точнее: мы должны различать, имеет ли гиперплазия что-либо общее с инициацией или активацией. Опыты с уретаном дали по

крайней мере один ясный ответ: гиперплазия отнюдь не является необходимой для формирования скрытых опухолевых клеток. После скармливания животным уретана не наблюдалось ни повреждения эпидермиса, ни соответствующих репаративных процессов.

Что же касается активации, то здесь получены не столь четкие результаты. Поэтому работы Геккера с сотрудниками приобрели особую важность: исследователям удалось изолировать и выявить структуру нескольких активных компонентов кротонового масла. При использовании одного из этих компонентов (названных Геккером ТПА) оказалось возможным провести эксперименты по двухэтапному канцерогенезу на четкой количественной основе. Выяснилось, что ТПА не только активатор, но и сильный воспалительный (2 мкг ТПА, нанесенных на спинку мыши, вызывают большую отслойку эпидермиса и отек кожи), а также гиперпластический фактор.

С использованием форболовых эфиров в решении рассматриваемой проблемы появились новые возможности: подробное знание молекулярной структуры этих веществ позволяет производить в их молекулах вполне конкретные перестройки и таким образом выяснить, какие компоненты сложной молекулы определяют ее биологическую активность. В такого рода экспериментах можно выявить соединения, которые обладают либо только воспалительным, либо только активирующим действием. С другой стороны, «чистые» агенты с «чисто» коканцерогенным действием до сих пор также не были известны.

Раус обнаруживает двухступенчатый процесс в опытах на ушах кролика

К тому времени (1941), когда Беренблум опубликовал данные своих первых экспериментов о применении кротонового масла на коже мыши, Раус сообщил об опытах, проведенных на ушах кролика, которые позволили ему сделать те же выводы. Его наблюдения сводились к следующему:

1. При обработке ушей кролика каменноугольной смолой развиваются опухоли. Если обработку прервать, то во многих случаях опухоли исчезают. Если же снова начать обработку смолой, то опухоли возникают в тех же местах.

2. Повторная обработка смолой не была единственным фактором, который пробуждал «дремлющую» опухоль: этому способствовала также обработка скипидаром или хлороформом, которые сами по себе не являются канцерогенами. Опухоль возникала и в процессе заживления раны. Проткнув штопором дырку в ухе животного, Раус вызывал развитие опухоли в ране.

И вновь был сделан вывод, что образованию опухоли способствуют по крайней мере два процесса:

- а) индуцирование «дремлющих» опухолевых клеток;
- б) размножение этих «дремлющих» клеток и формирование из них опухоли в результате неканцерогенного процесса.

Кротоновое масло нельзя считать «химическим штопором»

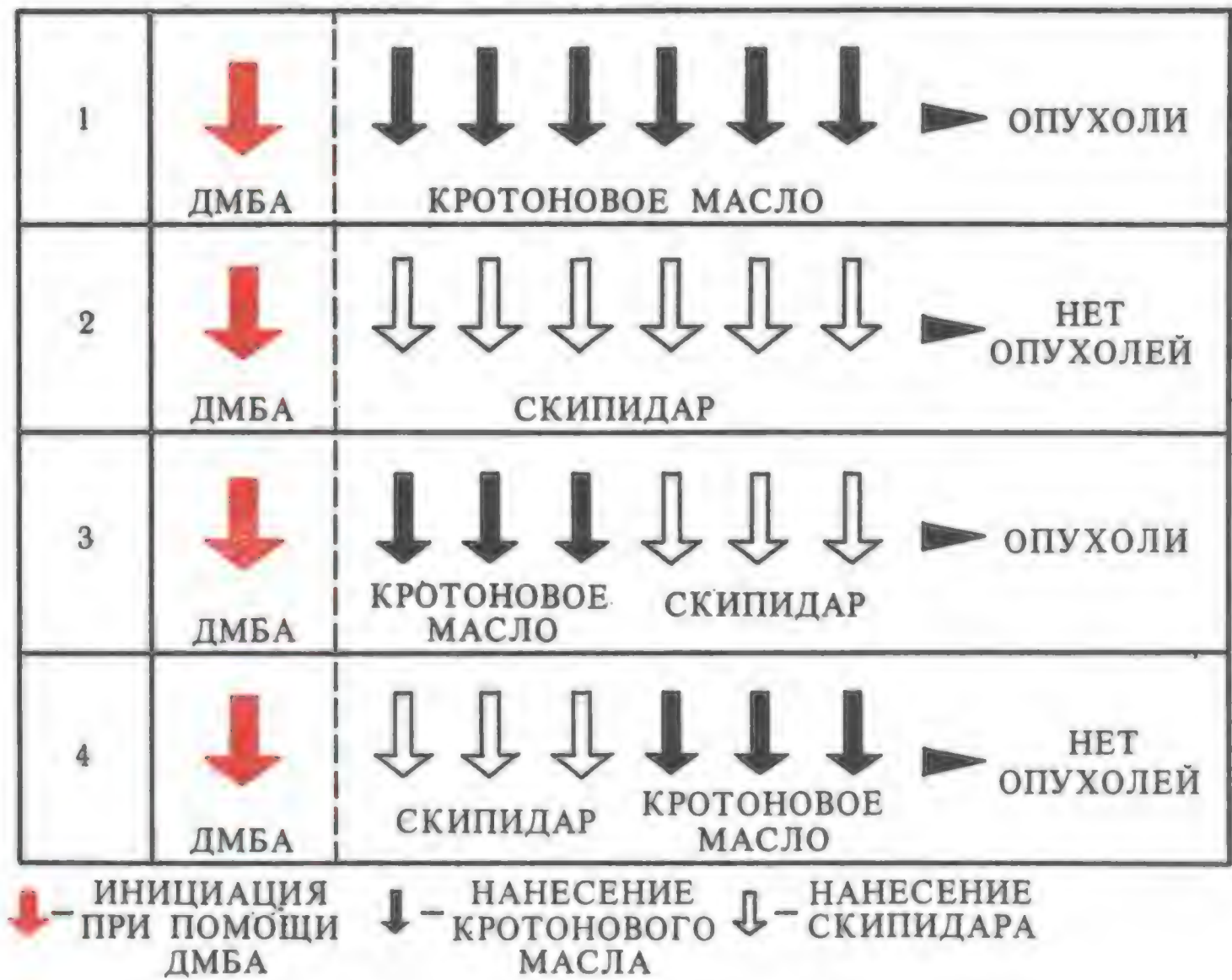
Сделанное Раусом наблюдение о том, что простое заживление раны после механического повреждения существенно ускоряет рост опухоли, казалось бы, должно было натолкнуть ученых на мысль рассматривать кротоновое масло в качестве своеобразного «химического штопора». Иными словами, кротоновое масло следовало считать причиной образования раны, заживление которой есть не что иное, как коканцерогенный процесс. Однако такой концепции противоречат данные о том, что многие вещества, вызывающие воспаление и способствующие развитию регенеративной гиперплазии («заживление раны»), не являются коканцерогенами.

Морфологическое изучение кожи, обработанной ТПА, также указывает на специфический эффект: прежде всего не происходит образования раны, а следовательно, разрушения клеток эпидермиса. Сначала набухают базальные клетки, в том числе и их ядра, а затем происходит интенсивное размножение клеток (гиперплазия). Многократные деления клеток не направлены на заживление раны; клетки продолжают делиться даже при отсутствии раны. Настоящая рана образуется позднее, когда отторгается целый слой кожи.

Для воссоздания полной картины недостаточно двух стадий

Баутвеллу удалось еще полнее разделить фазу активация — развитие скрытых опухолевых клеток. С этой целью мышей первоначально обрабатывали ДМБА, а затем кротоновым маслом и скипидаром. Детали эксперимента приведены на диаграмме (фиг. 12).

Итак, скипидар может воспроизводить некоторые эффекты кротонowego масла, но поздние, а не ранние. Другими словами, он, по-видимому, способен довести активацию до конца, хотя начинать ее не может. Для первой стадии активации Баутвелл предложил термин «конверсия». Тем самым он подчеркивал, что на этой стадии потенциальные опухолевые клетки превращаются в подлинные «дремлющие» опухолевые клетки, которые позднее, размножаясь, дадут опухоль. Судя по всему, специфическая гиперплазия или заживление раны дают толчок к размножению клеток, но не к их превращению.



Ф и г. 12.

Активация обратима

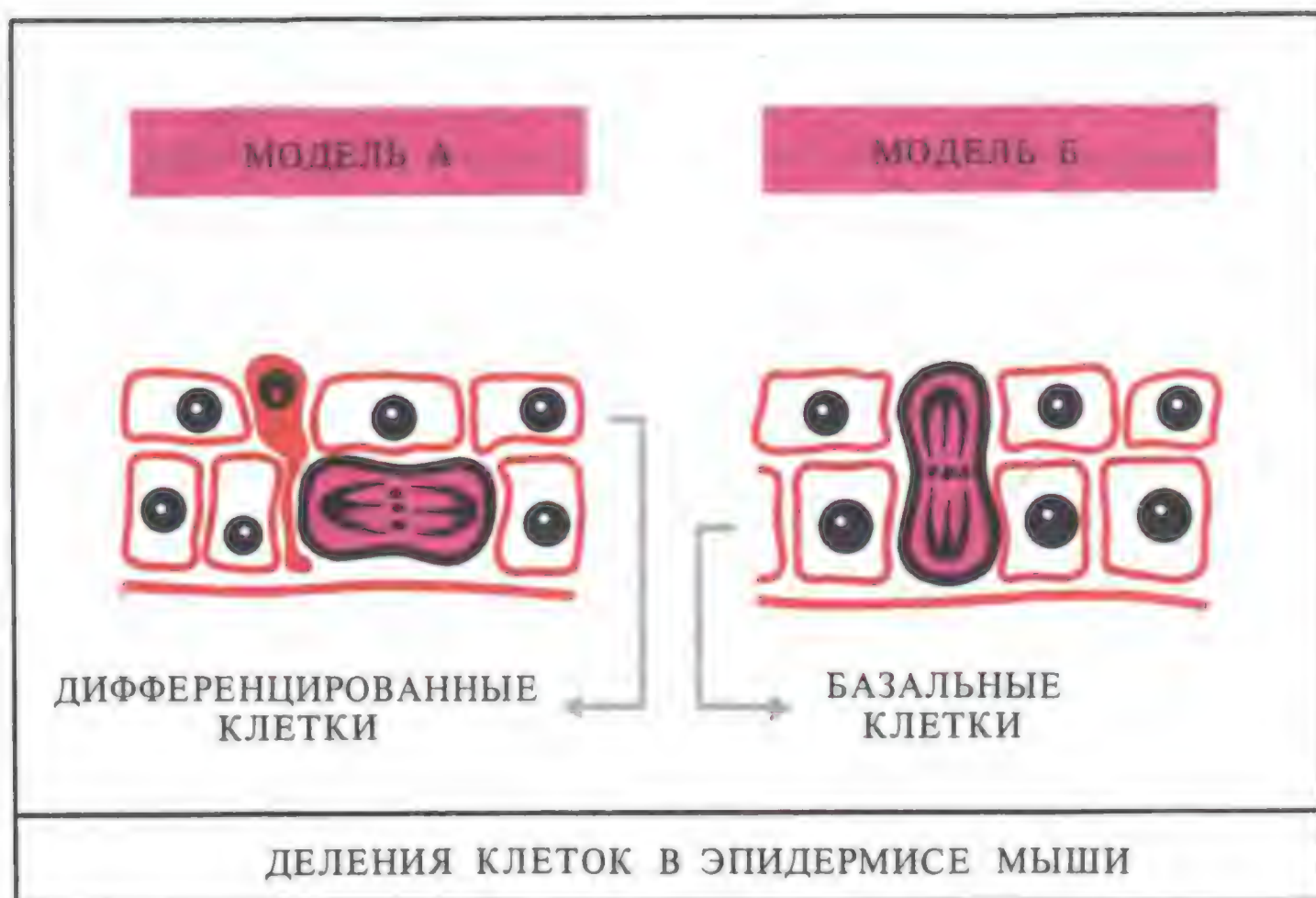
Совсем небезразлично, через какие интервалы времени обрабатывать мышь кротоновым маслом. Если суммарную дозу (1,5 мг) давать крайне малыми единичными дозами и часто или же обычные эффективные дозы давать с очень большими перерывами, то, согласно Баутвеллу, в обоих случаях будет наблюдаться выраженное снижение процента образования опухолей.

Это значит, что эффект кротонового масла обратим в отличие от результатов аналогичного эксперимента с ДМБА, суммация действия которого (мы об этом говорили ранее) была правилом.

Инициация необратима

Продолжительность отрезка времени с момента инициации до начала обработки кротоновым маслом не столь существенна. Латентный период и выход опухолей остаются теми же — как в случае проведения активации сразу, так и через 40 недель. Это означает, что инициированные клетки сохраняются и, если можно так сказать, «ожидают сигнала» от кротонового масла. Подобная стабильность поистине поразительна, ибо за 40 недель популяция эпидермальных клеток часто полностью сменяется и генерация клеток, обработанных канцерогеном, уже давно сменилась новыми клетками. Следовательно, видоизмененная генетическая информация потенциальных опухолевых клеток должна быть неоднократно переписана.

Однако такой вывод вовсе не является обязательным, поскольку измененные клетки могут находиться в ткани и быть исключенными из процесса постоянной клеточной регенерации. Правда, такая альтернатива представляется несколько искусственной, более вероятной кажется все-таки гипотеза, допускающая процесс полной смены эпидермальных клеток. На фиг. 13 представлены две модели, отличающиеся друг от друга пространственной ориентацией митоза. Модель Б позволяет легко объяснить, почему число опухолевых центров на протяжении длительного отрезка времени остается постоянным и почему даже по прошествии года сохраняется постоянная цифра выхода опухолей. Правда, у этой модели один недостаток: возможно, она совершенно неверна.



Ф и г. 13.

Модель А кажется более вероятной, поскольку «выскальзывающие» клетки, показанные на схеме, действительно наблюдаются под микроскопом (Иверсен). По сообщению Буллоу, в эпидермисе мыши митозы ориентируются, как правило, таким образом, что обе дочерние клетки остаются в базальном слое: «Вероятно, только благодаря возрастающему давлению клетки выдавливаются в наружные слои, где начинается синтез кератина». Авторадиографические исследования также подтверждают модель А. Иверсен пометил эпидермальные клетки, находящиеся в S-фазе, тимидином, меченным по тритию, и проследил за смещением метки. Как оказалось, лишь 10% меченых клеток сразу мигрируют в верхние слои, преобладающая же часть их после митоза остается в базальном слое. Карачай подтвердил наблюдения Иверсена методом авторадиографии.

Модель А позволяет также объяснить, почему число скрытых опухолевых клеток (в среднем) не меняется со временем. Однако вполне возможно, что случайные скрытые опухолевые клетки «выдавливаются» в соответствии с вышеупомянутым механизмом на поверхность и теряются, но большая часть скрытых опухолевых клеток по теории вероятностей остается в базальном слое. Иными словами, чем дольше период до начала обработки кро-
 82

новым маслом, тем больших колебаний в выходе опухолей можно ожидать; это значит, что число животных-опухоленосителей должно снижаться. И действительно, так произошло в одном случае из четырех известных авторам.

Универсальность двухступенчатой гипотезы подвергается сомнению

Опыты на ухе кролика и коже мыши относятся к числу наиболее важных, но не единственных примеров двухступенчатых экспериментов. Хаггинс проделал следующий замечательный опыт: одной группе крыс штамма, у которого никогда не наблюдались спонтанные саркомы, подкожно ввели сезамовое масло (часто используемый носитель для жирорастворимых соединений). Другая группа получала метилхолантрен (МХ) с пищей. Ни у одной из групп подопытных животных опухоли не развивались. Но если крысам, которым скармливали МХ, инъецировали к тому же сезамовое масло, то в месте инъекции у них развивались саркомы. Напрашивается вывод, что вводимый с пищей канцероген превращает некоторые клетки соединительной ткани в скрытые опухолевые клетки, которые затем активируются в результате раздражения, вызванного инъекциями масла.

Несмотря на все сказанное, индуцирование опухолей в соответствии с двухступенчатой схемой вряд ли найдет всеобщее экспериментальное применение. Если еще развитие лейкозов и может следовать этой схеме, то для индуцирования гепатом удовлетворительных двухступенчатых систем пока не найдено. Даже кожу мышей нельзя рассматривать просто как кожу: так, кожа хвоста устойчива по отношению к продолжительной обработке ДМБА, а кожа ушей не дает опухолей при смазывании ТПА, если одновременно скармливать животному ДМБА. У крыс стандартные двухступенчатые процедуры, направленные на индуцирование опухолей, дали отрицательные результаты.

Если же ДМБА или диэтилнитрозамин (ДЭНА) инъецировать в субпороговых дозах хомячкам, а затем дать им вдыхать порошок окиси железа (гематит), то развивается рак бронха. К таким же результатам приводит использование на втором этапе в качестве активного агента «неканцерогенной» двуокиси серы.

Синканцерогенез: канцерогены могут взаимно заменять друг друга

С открытием большого числа различных химических канцерогенов перед исследователями стал вопрос: запускает ли в движение все эти вещества некий единый механизм, ведущий к развитию опухолей. Канцерогены можно найти среди различных классов химических соединений, таких, как полициклические ароматические углеводороды, ароматические амины и нитрозамины. Уретан представляет собой минимальную комбинацию амида и эфира, а тиомочевина — это мочевина с атомом серы вместо атома кислорода.

Такая множественность физико-химических свойств позволяет предположить, что индуцирование, в частности, гепатом посредством введения ДАБ или ДЭНА происходит двумя совершенно различными путями. Однако подобное предположение полностью опровергается экспериментом. При одновременном скармливании обоих канцерогенов достаточно 60% минимальной дозы каждого соединения, чтобы вызвать опухоль (Шмель). Следовательно, ДЭНА в значительной мере способен заменять ДАБ.

И это далеко не единичный случай. В 30—40-х годах Хайджер и Раш уже показывали взаимозаменяемость 3,4-бензпирена и ДМБА, а Фридрих-Фрекса (1940) обнаружил, что метилхолантрен может заменять бензпирен и наоборот. Вполне допустимо, что близкородственные вещества, такие, как углеводороды, могут быть взаимозаменяемыми в этом плане. Однако даже совсем различные вещества (4-нитрохинолин-N-оксид и 3-метилхолантрен), по свидетельству Накахары, могут заменять друг друга в индуцировании рака кожи.

Особый интерес вызвали успешные попытки индуцировать рак кожи одновременно обработкой химическими канцерогенами и облучением. Хошино с соавторами вводил в субпороговых дозах 4-нитрохинолин-N-оксид и одновременно подвергал β -облучению ^{90}Sr ; при этом у животных развивались папилломы, фибросаркомы и карциномы. На основании полученных данных авторы пришли к выводу, что 4-нитрохинолин-N-оксид и β -облучение обладают качественно эквивалентным действием.

Шмель на основании собственных опытов пришел к следующему выводу: «Суммация канцерогенных эффектов наводит на мысль, что место атаки канцерогенного фактора

в клетке должно быть строго фиксированным; в противном случае суммацию нельзя было бы объяснить».

(В опыте Хошино имеется одна существенная деталь: небезразлично, когда вводится 4-нитрохинолин-N-оксид — до или после облучения.)

Не исключено, что взаимозаменяемость канцерогенов возможна не на всех этапах канцерогенеза. Согласно гипотезе Беренблума и Рауса, это должно означать, что у различных канцерогенов первичные эффекты полностью различаются, но при этом канцерогены обладают одним общим свойством — способностью к активации.

Синканцерогенез и коканцерогенез: вопрос не только терминологический

Концепция синканцерогенеза (Бауэр) и концепция коканцерогенеза синонимичны лишь на первый взгляд. Под синканцерогенезом понимают синэргическое действие канцерогенов, в то время как под коканцерогенезом подразумевают факторы, которые способствуют канцерогенезу, но сами по себе не являются канцерогенными. Так, кротоновое масло — коканцерогенное вещество, которое само по себе неканцерогенно.

В строгом смысле слова кротоновое масло канцерогенно: при больших дозах можно получить достаточно высокий процент образования папиллом. Кротоновое масло представляет собой смесь многих веществ, и не исключено, что активирующие и канцерогенные свойства принадлежат различным его компонентам. Именно по этой причине Геккер фракционировал кротоновое масло, стремясь выделить и дать характеристику свойств чистых соединений. Но даже он не сумел ответить на первоначальный вопрос, поскольку чистый активатор в больших дозах все же проявил слабую канцерогенность.

В итоге был сделан следующий вывод: двухступенчатые эксперименты по существу представляют собой лишь особый случай синканцерогенеза; мы же наблюдаем взаимодействие различных канцерогенов, отличающихся только характером действия — потенцирующим или суммирующим. Если придерживаться такой точки зрения, то между инициацией и активацией не существует особых различий. Это, однако, находится в полном противоречии с фактами, изложенными выше, а они свидетельствуют о том, что

инициация в отличие от активации необратима. Кроме того, как уже указывалось ранее, возникновение опухоли зависит от последовательности воздействия ряда факторов. Например, обработка кротоновым маслом до нанесения канцерогена эффекта не дает. И последнее: мнимый канцерогенный эффект кротонового масла и его чистых компонентов легко объяснить — в эксперименте трудно исключить спонтанную инициацию опухолей в результате воздействия таких факторов, как ультрафиолетовое облучение или космические лучи. Кротоновое масло лишь проявляет спонтанно индуцированные скрытые опухолевые клетки.

Заключение

Химическое индуцирование папиллом на примере кожи мыши можно разделить на две фазы (стадии, ступени). В первой (инициация) индуцируются так называемые скрытые опухолевые клетки; во второй (активация) эти клетки, размножаясь, дают опухоль.

Активация может проходить под воздействием неканцерогенных веществ; к самым известным из них относится кротоновое масло. Инициация в отличие от активации необратима.

Однако двухступенчатая гипотеза укладывается не во все экспериментальные схемы.

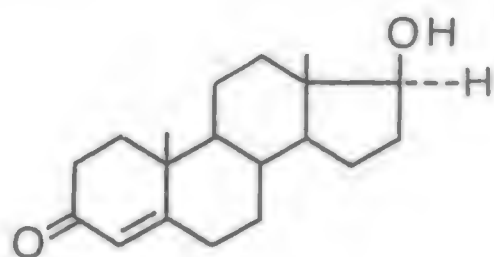
Факторы хозяина¹

в возникновении опухоли

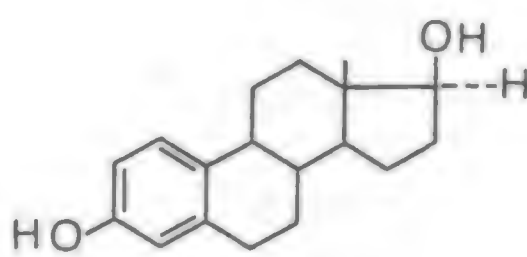
Незначительные причины могут подчас повлечь за собой важные последствия. И хотя это утверждение расходится с механикой Ньютона, где каждое действие вызывает равное противодействие, в сложных регуляторных системах даже очень слабые силы могут послужить толчком к сложным действиям и взаимодействиям. Если вы просто откроете водопроводный кран, то легко убедитесь в диспропорции, которая существует в соотношениях между затраченной энергией (поворот крана рукой) и производимой работой (ток воды). Сошлемся также на пример человека, который отлично знает, что такое ключ зажигания, но может не иметь никакого представления о механизмах, приводящих в движение его автомобиль. Примерно такая же картина наблюдается и среди тех ученых, которые, хорошо зная химию канцерогенов, плохо представляют себе процессы, вызываемые этими веществами. И в данной ситуации нередко простые взаимоотношения причина — следствие уступают место триггерным механизмам. Но даже тончайшее знание этих механизмов вовсе не означает знания процессов, которые ими вызываются.

Небольшие изменения в молекулярной структуре могут повлечь за собой огромные изменения биологических свойств (фиг. 14). Андрогены и эстрогены (мужские и женские половые гормоны) имеют довольно сходную молекулярную структуру. Как те, так и другие являются стероидами с четырьмя соединенными вместе углеродными кольцами. Однако они оказывают совершенно различное действие, и через обычные обменные процессы ведут вначале к морфологическим, а затем и к психическим изменениям.

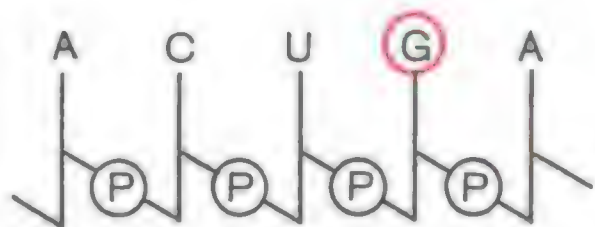
¹Словом «хозяин» (host) в зарубежной медицинской литературе принято обозначать организм, в котором происходят те или иные процессы. Например, хозяином является организм реципиента при пересадках тканей и органов. В данном случае речь идет об опухоленосителе. — *Прим. ред.*



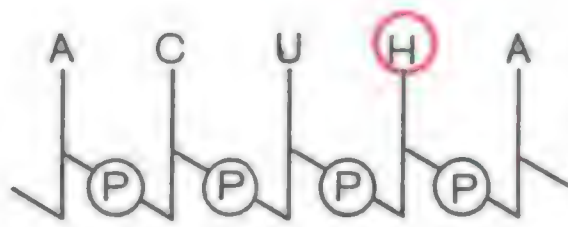
ТЕСТОСТЕРОН



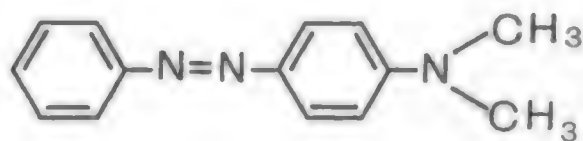
ЭСТРАДИОЛ



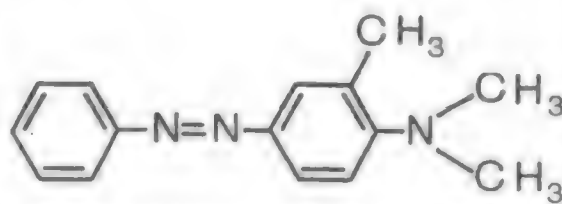
ИНФЕКЦИОННАЯ РНК
ВИРУСА



ИНАКТИВИРУЕМАЯ РНК
ВИРУСА



КАНЦЕРОГЕННЫЙ КРАСИТЕЛЬ
(ДАБ)



НЕКАНЦЕРОГЕННЫЙ
КРАСИТЕЛЬ
3-МЕ-ДАБ

НЕБОЛЬШИЕ ИЗМЕНЕНИЯ С ВАЖНЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ

Ф и г. 14.

Вирусы представляют собой наиболее выразительный пример зависимости биологических свойств от тонкой химической структуры. Так, если листья здорового растения табака обработать препаратом рибонуклеиновой кислоты вируса табачной мозаики, то через несколько дней появятся первые признаки серьезного заболевания: листья начнут вянуть и растение погибнет. А сходный препарат вирусной РНК, в котором изменен лишь один (в среднем) из 2000 строительных блоков, не оказывает на растение никакого воздействия. Такие минимальные изменения могут быть вызваны, например, при обработке нитритом натрия; при этом происходит замена аминогруппы на оксигруппу в остатках гуанина или аденина. Остальная часть молекулы

РНК остается неизменной. Однако простого изменения одного лишь строительного блока в РНК достаточно для обезвреживания этой крайне инфекционной рибонуклеиновой кислоты.

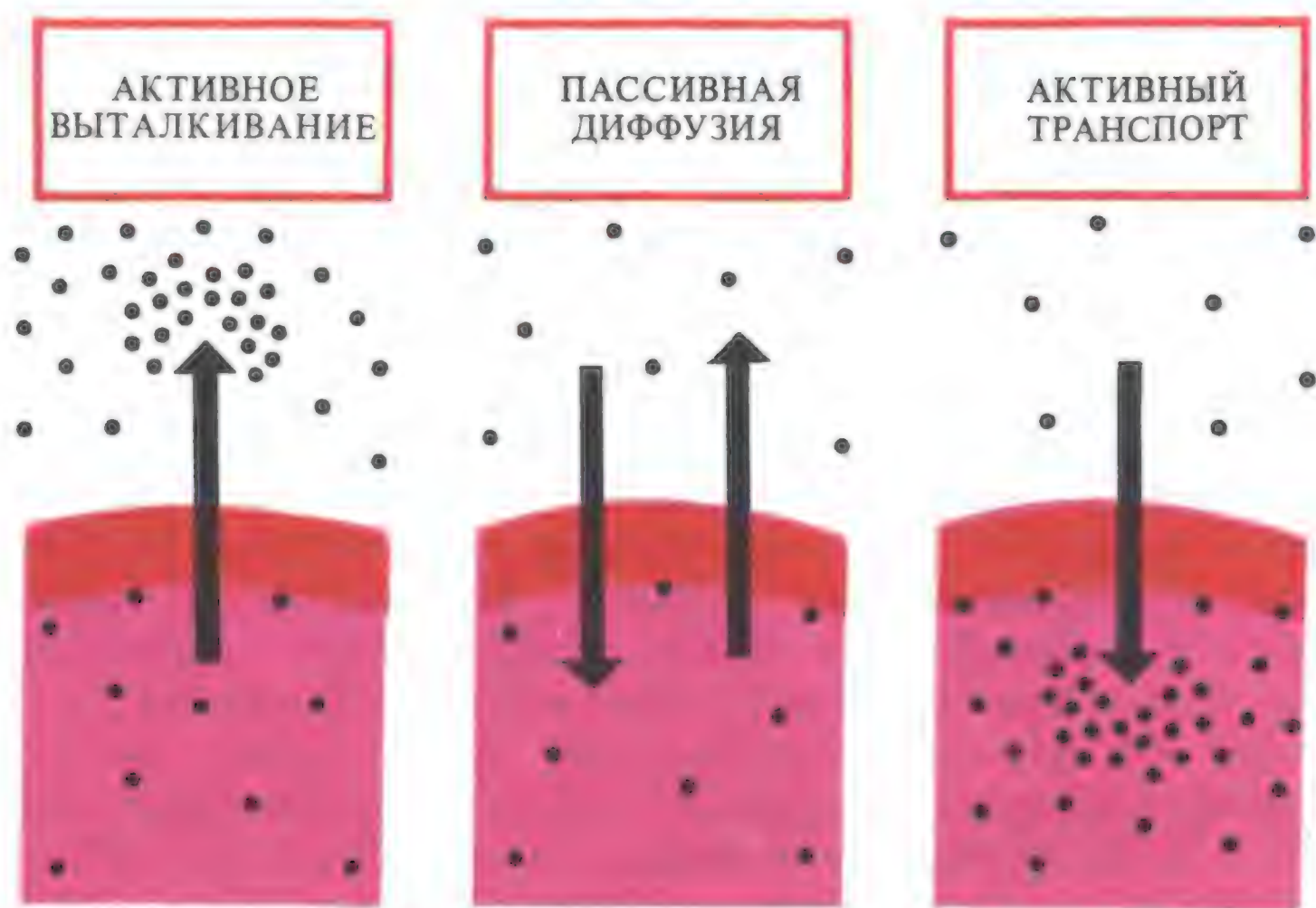
Различия между канцерогенами и неканцерогенами также могут быть сравнительно простыми. Если кожу мышей смазывать раствором 3,4-бензпирена, в ряде случаев разовьются папилломы и раки, между тем как 1,2-бензпирен не вызывает опухолей в течение всего времени жизни животного. Рассмотрим еще один пример: N,N-диметил-4-аминоазобензол обладает канцерогенным действием, а 2-метил-ДАБ — нет; канцерогенная активность снимается введением одной лишь метильной группы.

До сих пор мы рассматривали канцерогенез главным образом с позиций химических канцерогенов. Настало время внести в эту картину дополнения. Рассмотрим вклад самого организма в этот процесс, постараемся выяснить, какие факторы, помимо канцерогенов, могут влиять на канцерогенез. Полное описание этих факторов все еще не представляется возможным, поэтому нам придется ограничиться лишь несколькими примерами. Остановимся прежде всего на барьерах, стоящих перед канцерогенами, которые вызывают опухоль.

Проникновение в «святая святых»

Основная проблема для канцерогена — проникновение внутрь клетки: доступ туда ограничен, поскольку клеточные мембраны весьма разборчивы в том, какие вещества и в каких количествах допускать в клетку из внешней среды (фиг. 15). Клеточные мембраны состоят в основном из липофильных строительных блоков, и этот факт уже сам по себе существенно ограничивает возможность проникновения в клетку. Чистые жирорастворимые вещества застревают в мембранах, преодоление водных фаз для них крайне затруднительно. И напротив, вещества, растворимые в воде, встречают препятствие на мембранах, состоящих из липидов и отталкивающих их, подобно тому как жирная поверхность отталкивает каплю воды.

Относительную растворимость веществ в гидрофильных и гидрофобных растворителях можно измерить количественно. Для этого исследуемые вещества подвергают разделению в несмешивающихся водных и иных растворителях,



Ф и г. 15.

после чего определяют их концентрацию в обеих фазах. Ханш и Фужита подвергли разделению серию соединений, полученных из канцерогенных и неканцерогенных азокрасителей. При использовании *n*-октанола и воды в качестве жидкостей им удалось выявить интересную зависимость между «коэффициентами разделения» испытуемых веществ и их канцерогенной активностью. Высокая растворимость в воде, а также в жирах свидетельствует о пониженной канцерогенности. Правда, имеются и исключения, но это не удивительно, поскольку клеточные мембраны — не просто пассивные барьеры, защищающие клетку от проникновения некоторых веществ.

Неоднократно отмечалось, что живые клетки обладают способностью активно поглощать некоторые вещества. В ряде случаев тщательным образом были проанализированы так называемые «пермеазы» (ферменты, участвующие в механизмах проникновения веществ через мембрану против градиента концентрации). До сих пор пермеаз для канцерогенных веществ не было обнаружено, но с их возможным существованием следует считаться.

Возможно, что для канцерогена не так сложно попасть в клетку, как удержаться в ней. Разумеется, противостоять канцерогенам могут защитные механизмы, позволяющие клетке освобождаться от нежелательных веществ, но мы

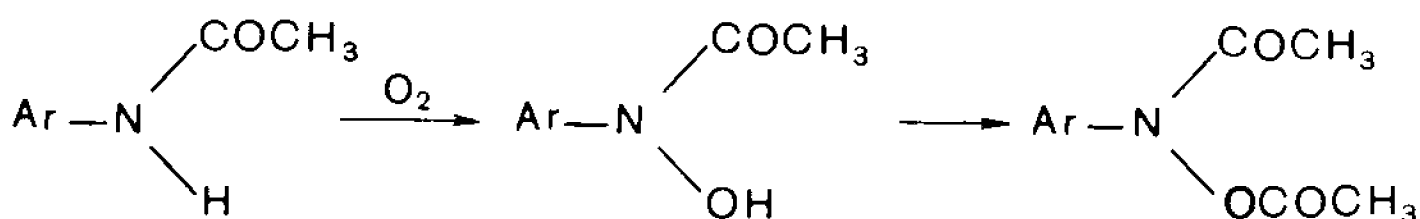
пока не располагаем экспериментальными доказательствами. Лишь для кортизола имеются еще не окончательные свидетельства того, что L-клетки способны выталкивать это вещество в случае, если ему все же удастся в них проникнуть. Свидетельства основываются на том факте, что в L-клетках с заблокированным производством энергии накапливается больше кортизола, чем в нормальных L-клетках.

Итак, проникновение канцерогена в клетку, по-видимому, зависит не только от его растворимости. Но это не было единственной причиной, побудившей Ханша искать и объяснять наблюдавшиеся им исключения.

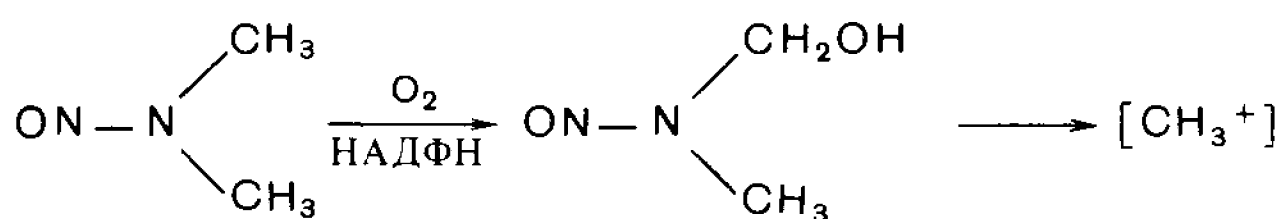
Активация канцерогенов — ограничивающий фактор в химическом канцерогенезе

Если канцерогену все же удалось проникнуть в клетку, это еще не означает, что канцерогенез начался. Многие канцерогены в процессе клеточного метаболизма должны сначала превратиться в активные формы, вот здесь-то и кроются различия между клетками. Одни клетки способны активировать канцерогенные вещества, другие нет. Во всяком случае, именно к такому объяснению прибегают многие ученые, когда речь заходит о том, почему некоторые канцерогены могут избирательно индуцировать опухоли в определенных органах и тканях. (Эту избирательность иногда называют органотропией.)

А поскольку, как правило, канцероген должен быть активирован, немаловажно, как и особенно где он наносится (или вводится). Рассмотрим в качестве примера индуцированные опухоли кожи: если ацетиламинофлуорен (ААФ) наносят непосредственно на кожу мыши, то последующая обработка кротоновым маслом оказывается неэффективной и папилломы не возникают. Но если ААФ скармливать животным с пищей, а не наносить на кожу, то эта же комбинация дает хорошие результаты. Активированные производные ААФ могут в этом случае достигать кожи после их предварительной обработки в печени. Мы уже наблюдали, каким образом происходит такая активация:

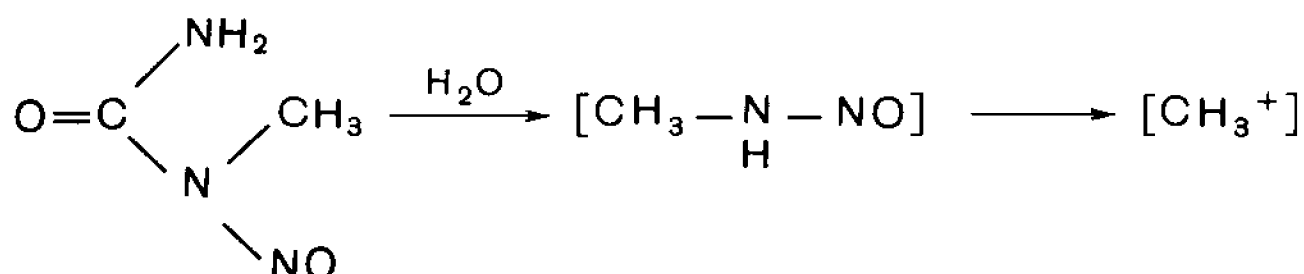


Нитрозамины также превращаются в активные промежуточные продукты в процессе обмена веществ в клетке, причем и здесь окисление играет решающую роль:



ДИМЕТИЛНИТРОЗАМИН

Правда, для близкородственных этим соединениям нитрозамидов (например, нитрозометилмочевины) активации, по-видимому, не требуется. Для превращения таких соединений в активные конечные продукты достаточно простого гидролиза:



Канцерогены, которые могут обходиться без активации и которые для проявления своих разрушительных свойств не должны проходить через процессы обмена веществ в клетке, следует рассматривать как исключение.

Иногда об активирующих реакциях говорят как о процессе токсикации, поскольку именно в организме происходит образование подлинных токсинов. Более известны обратные процессы — реакции детоксикации. Они также играют важную роль в канцерогенезе: канцерогены должны избегать вовлечения в эти реакции. Вероятно, токсикация и детоксикация по существу являются двумя сторонами одной медали.

Опасность для канцерогенов: реакции детоксикации

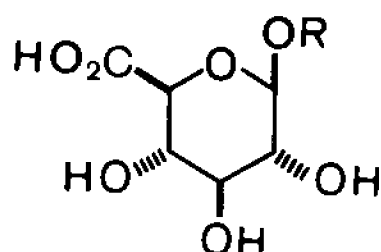
Если скармливать канцерогенные углеводороды (такие, как 3,4-бензпирен или 3-метилхолантрен) мышам или крысам, подопытные животные начнут выделять с экскрементами множество видоизмененных углеводородов. Часто достаточно ввести в эти вещества атом кислорода (реакция гидроксилирования). Некоторые гидроксилированные углеводороды были приготовлены в «ощутимых» количествах

и подвергнуты проверке на канцерогенную активность. Результат неизменно был одним и тем же: производные высокоактивных канцерогенов оказывались совершенно неактивными.

Правда, нет полной уверенности, что эти соединения действительно являются продуктами детоксикации. Если гидроксилированные канцерогенные углеводороды с трудом проникают сквозь клеточные мембраны — возможно, потому, что они легче растворяются в воде, — то они не могут проявлять свои канцерогенные свойства, даже если бы и обладали таковыми, попав в клетку. Следовательно, прямой тест на канцерогенность не всегда дает ясный результат.

Реактивация глюкуронидов в моче: рак мочевого пузыря

Активированные канцерогены могут превращаться в эфиры (гликозиды) глюкуроновой кислоты:



Затем они выделяются почками через мочеточник в мочевой пузырь. И здесь их канцерогенные свойства могут вспыхнуть вновь; моча содержит глюкуронидазу — фермент, который может высвободить эти канцерогены.

Судя по всему, этот механизм играет важную роль в возникновении рака мочевого пузыря под воздействием ароматических аминов: глюкуронидаза была обнаружена у человека и собаки, но не найдена у мышей и крыс. И как следствие этого человек и собака подвержены раку мочевого пузыря, а мыши и крысы — нет.

Итак, индуцирование рака мочевого пузыря ароматическими аминами, очевидно, вызывается чередованием реакций активации и дезактивации. Иными словами, «сила» применяемого канцерогена, так же как и место возникновения опухоли, в значительной мере определяются процессами метаболизма этих соединений.

Все процессы, с которыми мы познакомились, имеют самое непосредственное отношение к вопросу о том, быть

или не быть опухоли. Решающую роль играют сами канцерогены, но не меньшее значение имеют их способность проникать сквозь клеточные мембраны, их активация в процессе обмена веществ, их детоксикация. При этом канцероген должен не только найти подходящую клетку, но и сделать это в «подходящий момент».

Канцерогенез и правило фаз

Однократного скармливания канцерогена может оказаться достаточным, чтобы вызвать рак молочной железы. Хаггинсу удалось индуцировать карциному молочной железы у 100% самок крысы линии Sprague-Dawley однократным введением в пищеварительный тракт (через зонд) метилхолантрена или ДМБА (100 или 20 мг на крысу соответственно) в сезамовом масле. Возраст подопытных животных достигал 50—65 дней. Скармливание канцерогена более молодым или более старым крысам резко снижало частоту появления опухолей. Это позволяет сделать вывод, что успех эксперимента определялся правильным выбором возраста: вероятно, клетки молочной железы особенно чувствительны между 50-м и 65-м днями жизни животного.

Разумеется, следует учитывать и косвенные воздействия. Клетки молочной железы очень чувствительны к действию гормонов, и вполне возможно, что гиперчувствительность клеток в данный момент определяется особенно «благоприятным» сочетанием гормонов в клетке. Такие косвенные воздействия в опытах *in vitro* исключаются, тем не менее удалось установить, что в случае «канцерогенеза в пробирке» также важно найти клетку в нужной фазе (подробнее см. стр. 247).

Итак, установив все «переключатели» в нужное положение, можно достигнуть образования опухолевых клеток. Однако до образования из этих клеток опухоли еще далеко.

Опухолевые клетки могут находиться в «дремлющем» состоянии

Клиницисты часто с огорчением отмечают, что десятилетия спустя после, казалось бы, успешной хирургической операции у пациента может возникнуть аналогичная опухоль, нередко с другой локализацией — так называемые поздние метастазы. Например, после хирургического уда-

ления первичного рака молочной железы метастазы могут появиться в поясничных позвонках через 25—30 лет¹. Такие случаи доказывают, что раковые клетки „способны находиться в «дремлющем» состоянии в организме в течение ряда лет и даже десятилетий” (К. Х. Бауэр).

В «дремлющем» состоянии могут находиться не только мигрирующие опухолевые клетки. Иногда опухолевые клетки остаются как бы «замороженными» в месте их появления. Об этом свидетельствуют многочисленные клинические примеры, в частности так называемые карциномы *in situ* — злокачественные опухоли, часто обнаруживаемые на коже, в гортани, молочной железе и особенно на шейке матки (см. фиг. 54). Очень характерны случаи рака шейки матки *in situ*², клетки, имеющие бесспорно неопластический характер, формируются в больших количествах, но не прорываются через базальную мембрану, которая отделяет эпителий от подлежащей ткани. Такие клеточные массы остаются четко отделенными от нижних слоев ткани и не проявляют инвазивного роста. В случае ранней диагностики небольшая хирургическая операция обеспечивает полное излечение на этой стадии. Значение таких карцином *in situ* для медицины не вызывает сомнений, однако соответствующих моделей для опытов на животных пока не разработано.

И все же отдельными исследователями получены доказательства существования скрытых опухолевых клеток у крыс и хомячков. Фишер и Фишер инъецировали в воротную вену крысы 50 клеток карциномы Уолкера. По прошествии многих месяцев опухоли не обнаруживались ни в печени, ни в других местах. Однако если на таких крысах несколько раз проводили операцию с интервалами (просто раскрывали и закрывали брюшную полость и прикасались к печени), то в печени развивалась карцинома Уолкера. Этот

¹Появление метастазов после столь длительных промежутков времени является редчайшим исключением. В каждом таком случае необходимо доказать, что имеет место метастаз первой опухоли, а не новая опухоль сходной структуры (так называемая первичная метакронная множественность). — Прим. ред.

²Вероятно, карцинома *in situ* — не «замороженная» группа клеток, а ранняя стадия развития опухоли шейки матки. Многие клиницисты считают эту форму настоящей раковой опухолью, которая со временем переходит в инвазивную форму. — Прим. ред.

эксперимент показывает, что скрытые опухолевые клетки Уолкера действительно содержатся в печени и могут быть «пробуждены» простой травматизацией.

Парадоксальное влияние питания

Как правило, жизнедеятельность опухолевых клеток более затруднена при недостаточном питании хозяина (Танненбаум). Баутвелл в числе других ученых проводил опыты по канцерогенезу кожи в условиях недостаточного питания. Если подопытные животные (мыши) получали лишь 60% того количества пищи, которое считается достаточным для продолжения жизни, то число животных с папилломами (через 16 недель после активации кротоновым маслом) снижалось по сравнению с контрольной группой от 50 до 14%, причем среднее число папиллом на мышь падало от 6 до менее 2.

Буллоу предложил объяснение, которое более других пришлось ему по сердцу: животное, получающее недостаточное питание, живет в условиях постоянного стресса, и, следовательно, стрессовые гормоны (такие, как адреналин и кортизон) постоянно находятся на высоком уровне. Известно, что эти гормоны могут подавлять митозы. Таким образом, снижение процента образования опухолей объясняется просто. Во всяком случае, и сам по себе кортизон оказывает ожидаемое действие на появление опухолей. В двухступенчатом эксперименте инициация — активация суточное скармливание мыши 0,5 мг кортизона снижало появление карцином до 10% от контрольного уровня (Баутвелл). Несмотря на все сказанное выше, недостаточность питания не всегда способствует подавлению опухолей: так, гепатомы, индуцированные ДАБ, образуются лишь у животных, получающих пищу с недостаточным содержанием белка. Полноценная белковая пища в этом случае препятствует возникновению опухолей.

Упомянем еще один любопытный факт: недостаток холина в пище сам по себе ведет к возникновению гепатом у крыс.

Гормонально зависимый опухолевый рост

Развитие многих типов опухолей зависит от гормонов. Фоулдс наблюдал наиболее выразительный пример на мышах: спонтанные карциномы молочной железы быстро

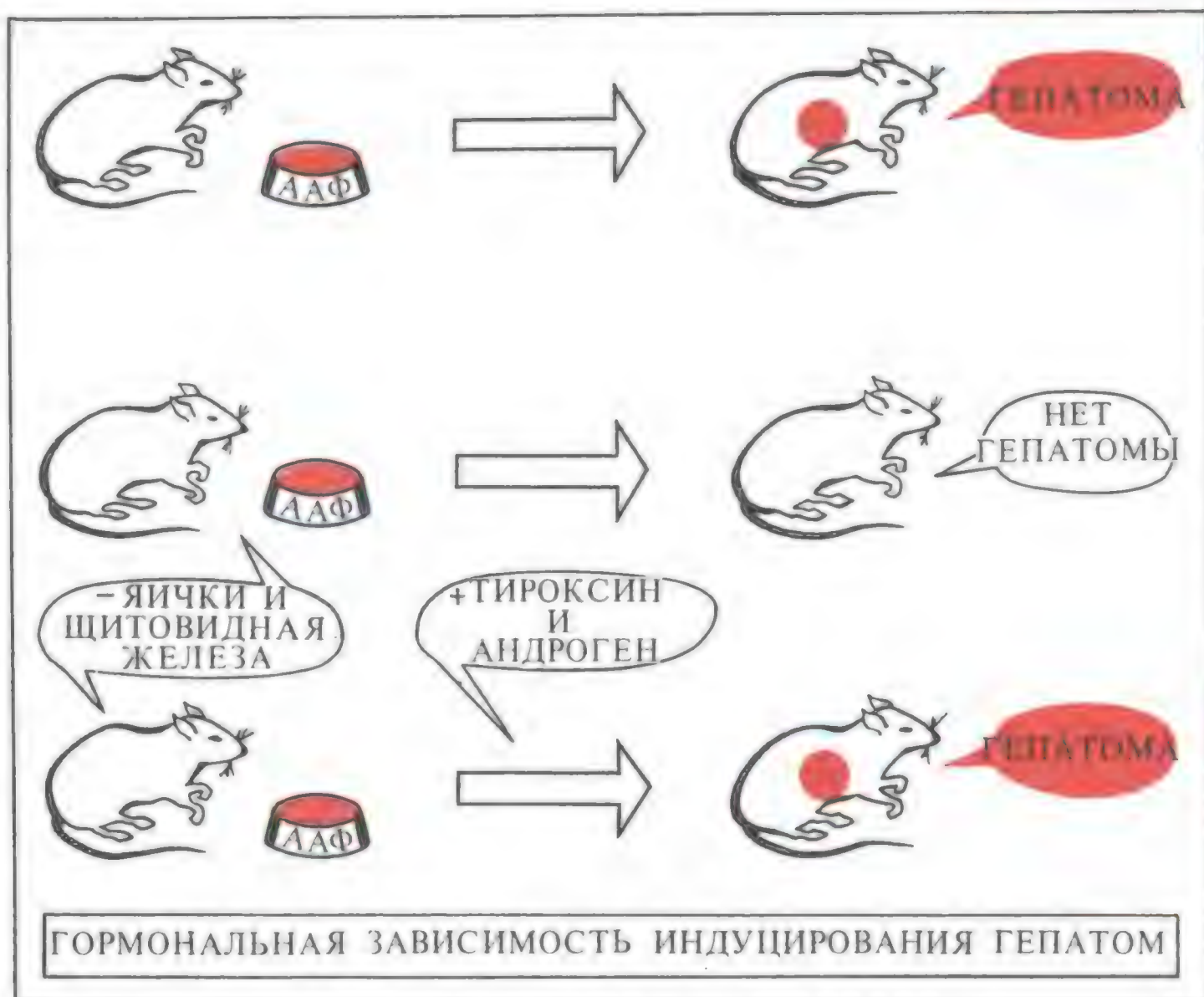
возникали во время беременности. После родов рост их замедлялся; отмечалась даже регрессия опухолей. Во время следующей беременности наблюдалась новая волна роста. В этом случае четко выявляется зависимость опухолевого роста от содержания гормонов. Следовательно, можно считать, что по крайней мере возникновение рака молочной железы зависит от гормонов. Однако в процессе дальнейшего развития карциномы у мышей утрачивали зависимость от гормонов, продолжали расти независимо от беременности и приводили к гибели животного.

Раки молочной железы у крысы проявляют гормональную зависимость на всех стадиях своего развития. Эту зависимость нетрудно проследить в простом эксперименте: рак молочной железы крысы регрессирует после хирургического удаления яичников. Такой «коканцерогенный» эффект женских половых гормонов даже необходим для развития рака молочной железы под воздействием вирусов; мы еще вернемся к этому примеру с вирусом Биттнера в главе о вирусах.

Но иногда удаление половых желез служит поводом для злокачественного роста. Охотникам знакомы случаи беспорядочного разрастания ткани на рогах оленя, приводящие подчас к гибели животного. Известны им и причины разрастаний: все эти олени в прошлом имели травму яичка. Такие рога, будучи интересным экспонатом охотничьей коллекции, демонстрируют также роль гормонального баланса в регуляции роста.

Решающим фактором в опухолевом росте, помимо половых гормонов, оказываются также гормоны гипофиза. Чтобы остановить рост рака молочной железы, достаточно вместо яичников удалить гипофиз. И наоборот, рак молочной железы мыши может быть экспериментально индуцирован подсадкой второго гипофиза. Такой дополнительный гипофиз может быть пересажен под кожу, в селезенку или даже под капсулу почки: в каждом случае чрезмерная выработка гормона гипофиза ведет к неопластическому росту.

Ткань молочной железы и в норме зависит от женских половых гормонов; таким образом, гормональная зависимость роста опухолевых клеток, возникших из ткани молочной железы, легко объяснима. Однако даже в органах, которые обычно не являются «мишенями» для этих гормонов, гормональные воздействия могут оказать важное



Ф и г. 16.

влияние на канцерогенез. Ройбер обнаружил, что гепатомы могут быть индуцированы под воздействием ААФ лишь в присутствии тироксина и тестостерона. Образование этих гормонов исключается удалением щитовидной железы и кастрацией: после такой двойной операции опухоли печени не развиваются. Дополнительное же введение таким животным тироксина и тестостерона вновь делает возможным возникновение гепатоцеллюлярных раков (фиг. 16).

Влияние гормонов на появление опухолей и опухолевый рост в высшей мере своеобразно для каждой опухоли. Все эти особенности пока не изучены, но то, что опухолевый рост связан с активностью гормонов, было известно свыше 100 лет назад. Еще в 1836 г. Купер установил связь между раком молочной железы и менструациями.

Опухолевые клетки должны обойти иммунную защиту

Значительно позднее были получены сведения о влиянии иммунной системы хозяина на рост опухоли. Иммунная система с клетками, продуцирующими антитела, и актив-

ными лимфоцитами, которые могут непосредственно убивать чужие клетки, регистрирует все «чужое» в организме: поскольку бактерии и вирусы для организма чужие, то против них приводится в действие весь арсенал антител. Очевидно, что опухолевые клетки, которые возникли из нормальных клеток ткани, тоже являются чужими для организма. Это значит, что специфическая для хозяина защита представляет основную опасность для опухолевых клеток (стр. 157 и след).

Характер метастазирования также определяется организмом хозяина

Обычно деятельность опухолевой клетки не заканчивается в первичной опухоли. Рано или поздно опухолевые клетки мигрируют из компактной массы первичной опухоли, переносятся кровью или лимфой и оседают где-нибудь в лимфатическом узле или в другой ткани. Для миграции имеется множество причин:

1. Важным мотивом для такого расселения является простой недостаток места (перенаселение ведет к миграции). Внутреннее давление в первичной опухоли продолжает возрастать до тех пор, пока из нее не начнут выталкиваться клетки. Как показали измерения, избыточное давление действительно способствует процессу метастазирования.

2. Лейтон указывает на очень простой механизм, объясняющий, каким образом происходит метастазирование даже без внутреннего давления. Всякий, кто работал с культурами тканей, знает, что клетки, вступающие в митоз, округляются и в значительной мере утрачивают контакт с окружающими клетками. Если клетки в опухоли делятся одновременно, то контакты клеток в данном небольшом участке ослабевают, и такие клетки способны с большей легкостью выпадать из общей массы, чем нормальные.

3. Согласно Фоулдсу, опухолевые клетки проходят определенный жизненный цикл, во время которого они развиваются с каждым разом все более в сторону автономии. Ученый предложил понятие «прогрессии» для такой ситуации: «Основная идея прогрессии остается той же, что и в эпигенетическом развитии в эмбриологии». Двумя этапами этой прогрессии являются инвазивный рост и метастазирование; предпосылкой для обоих служит потеря контакта с соседними тканевыми элементами.

Будет ли опухоль метастазировать, а если будет, то когда, определяется самими опухолевыми клетками и их непосредственным окружением. Однако в том, куда будет мигрировать вышедшая клетка, где она осядет и когда из нее образуется зрелая опухоль, немалая роль принадлежит хозяину. Клиницисты и экспериментаторы давно заметили, что метастазы в организме обычно распространяются неравномерно, по-видимому отдавая предпочтение некоторым тканям. Так, селезенка почти всегда избегает этой участи, в то время как печень, легкие и лимфатические узлы — излюбленные места оседания метастазирующих клеток. Пристрастие некоторых раковых клеток к определенным органам достигает порой крайнего выражения: например, Кинси описал меланому (S-91) мыши с особым сродством к ткани легкого. Если такая меланома была привита мыши, в ногу которой предварительно имплантировали ткань легкого, то меланома вырастала только в легочной ткани, причем как в имплантированном участке, так и в нормальном легком животного.

Эксперименты такого рода позволяют предположить, что некоторые ткани представляют собой особо «благоприятную почву» для определенных опухолевых клеток. И все же этого вывода недостаточно, чтобы объяснить все многообразие распределения метастазов. Фоулдс, например, считает, «что некоторые органы, особенно селезенка, противостоят оседанию в них клеток благодаря наличию местных механизмов, сходных с теми, что участвуют в отторжении пересаженных тканей у лабораторных животных». И наконец, простые гемодинамические эффекты могут оказывать существенное влияние на передвижение и оседание мигрирующих опухолевых клеток. По мнению Уолтера, образование метастазов возможно лишь в местах, к которым опухолевые клетки действительно имеют доступ и где они могут «задержаться». Правда, многие исследователи полагают, что возможно и чисто механическое распределение опухолевых клеток по всему организму.

Шмель и Ризенберг, например, инъецировали внутривенно большие количества клеток легко трансплантируемой асцитной опухоли, которая при таком методе введения вырастает в легких. Животных забивали через определенные промежутки времени и суспензии из клеток различных органов инъецировали в брюшную полость здоровым крысам. Доказательством наличия опухолевых клеток в соот-

ветствующей суспензии было развитие асцитной опухоли. При такой постановке опыта через час после внутривенного введения опухолевых клеток Уолкера жизнеспособных опухолевых клеток можно было обнаружить во всех исследуемых органах (легкие, печень, почки, селезенка и кровь). Однако через сутки материал, способный к индуцированию опухолей, обнаруживался лишь в препаратах легкого. Эксперимент позволяет сделать следующий вывод: вряд ли имеются препятствия к распределению опухолевых клеток; кроме того, многие органы, в которых поначалу оседают опухолевые клетки, через определенный промежуток времени от них освобождаются. Довод в пользу того, что в таком эксперименте легкие являются первым фильтром, несостоятелен, ибо другие опухоли при аналогичной постановке опыта метастазируют с иным характером распределения.

Как утверждает Лейтон, «сегодня многие склоняются к мнению, что теория благоприятной почвы и механоциркуляторная теория должны рассматриваться не как взаимоисключающие, а как дополняющие друг друга».

Заключение: факторы хозяина или «стратегия выигрыша» в развитии опухолей

Химический канцерогенез — это целая полоса препятствий: на многих этапах решается вопрос, быть или не быть в конечном счете опухолевой клетке. Трудности имеются и в проникновении внутрь клетки, и в активации до действующих активных форм, и в детоксикации канцерогена. Лишь когда канцероген в достаточных количествах проникает в клетку, когда он превращается в реакционно-способный продукт и вновь не инактивируется под воздействием детоксицирующих ферментов, лишь тогда и только тогда канцероген получает возможность преобразовать клетку. «Канцероген должен подходить ко многим замочным скважинам».

Более того, он должен не только подойти к замочной скважине, но и повернуть замок в нужный момент. Произойдет ли неопластическая трансформация или не произойдет, по-видимому, зависит также от стадии клеточного цикла, на которой канцероген атакует клетку.

Каждое из таких решений в той или иной мере вносит вклад в более или менее избирательное превращение какой-

то части клеток в опухолевые под воздействием некоторых канцерогенов. Для такой избирательной чувствительности был предложен термин органотропия.

Но и для готовых опухолевых клеток не все опасности позади. Клетки должны миновать защитную систему хозяина, и здесь, как правило, они получают поддержку со стороны гормонов. В опыте, поставленном Фоулдсом на карциноме молочной железы крысы, было показано, насколько значительным может оказаться влияние гормональных систем на рост опухоли. Иммунный ответ и уровень гормонов — лишь два примера из множества регуляторных систем организма, которые опухолевая клетка должна принимать в расчет. Регуляторные системы самой ткани имеют первостепенную важность для выживания опухолевой клетки. Мы не упоминали о тканеспецифических регуляторных возможностях, но именно они могут сыграть решающую роль в канцерогенезе. Поэтому мы подробнее остановимся на этих вопросах в следующей главе.

Даже на заключительном этапе жизненного цикла опухолевой клетки, на пути к метастазам, ее судьба зависит от организма хозяина в целом. Гемодинамические факторы совместно с биохимическими характеристиками ткани-мишени определяют особенности оседания в органе мигрирующих опухолевых клеток.

И наконец, на развитие опухоли могут оказывать влияние простые изменения в питании хозяина. Гепатомы, индуцированные ДАБ, могут быть вызваны лишь у животных с недостаточным белковым питанием. Низкокалорийная пища, наоборот, подавляет развитие карциномы кожи (Танненбаум).

В шахматной игре «канцероген против клетки» далеко не все комбинации ходов верны. Канцерогену приходится вести игру не только против клетки-мишени, но и против целого организма.

Тканеспецифическая регуляция роста («халоны»)

Факторы, определяющие размеры тела, отнюдь не носят случайного характера: «человек — животное, дышащее легкими,— не может быть таким небольшим, как насекомое, и наоборот. Лишь иногда, как, например, в случае жука-голиафа, жуки могут оказаться больше мыши. Таким образом, каждая группа животных имеет верхние и нижние пределы размеров тела» (Д'Арси Томпсон).

Эти пределы, по-видимому, устанавливаются простыми физическими законами: теплокровные животные должны компенсировать потери тепла его постоянным производством. Тепловое излучение пропорционально площади поверхности тела, а производство тепла пропорционально весу. Следовательно, небольшое животное должно производить больше тепла (по отношению к своему размеру), чем более крупное животное; в связи с этим ему требуется больше питания. Так, объем потребляемой человеком пищи составляет примерно одну пятидесятую от веса его тела, между тем как мышь за два дня поедает столько же пищи, сколько весит сама. Вот почему нет теплокровных животных, чьи размеры были бы значительно меньше, чем размеры мыши.

Предельные размеры насекомых зависят от особенностей их дыхательной системы: трахеи поставляют кислород непосредственно ко всем участкам тела насекомого, однако простая диффузия в этой элементарной системе трубочек обеспечивает снабжение тканей кислородом лишь на небольшую глубину.

Но если нам известно, почему мышь не может быть меньших размеров, чем она есть на самом деле, мы все же далеки от знания, почему мышь, крыса или кролик вырастают лишь до определенных размеров, отклонения от которых в нормальных условиях незначительны. И хотя индивидуальные размеры животного определяются факто-

рами наследственности и окружающей среды, мы не знаем, какие именно факторы, какие силы в действительности ограничивают рост.

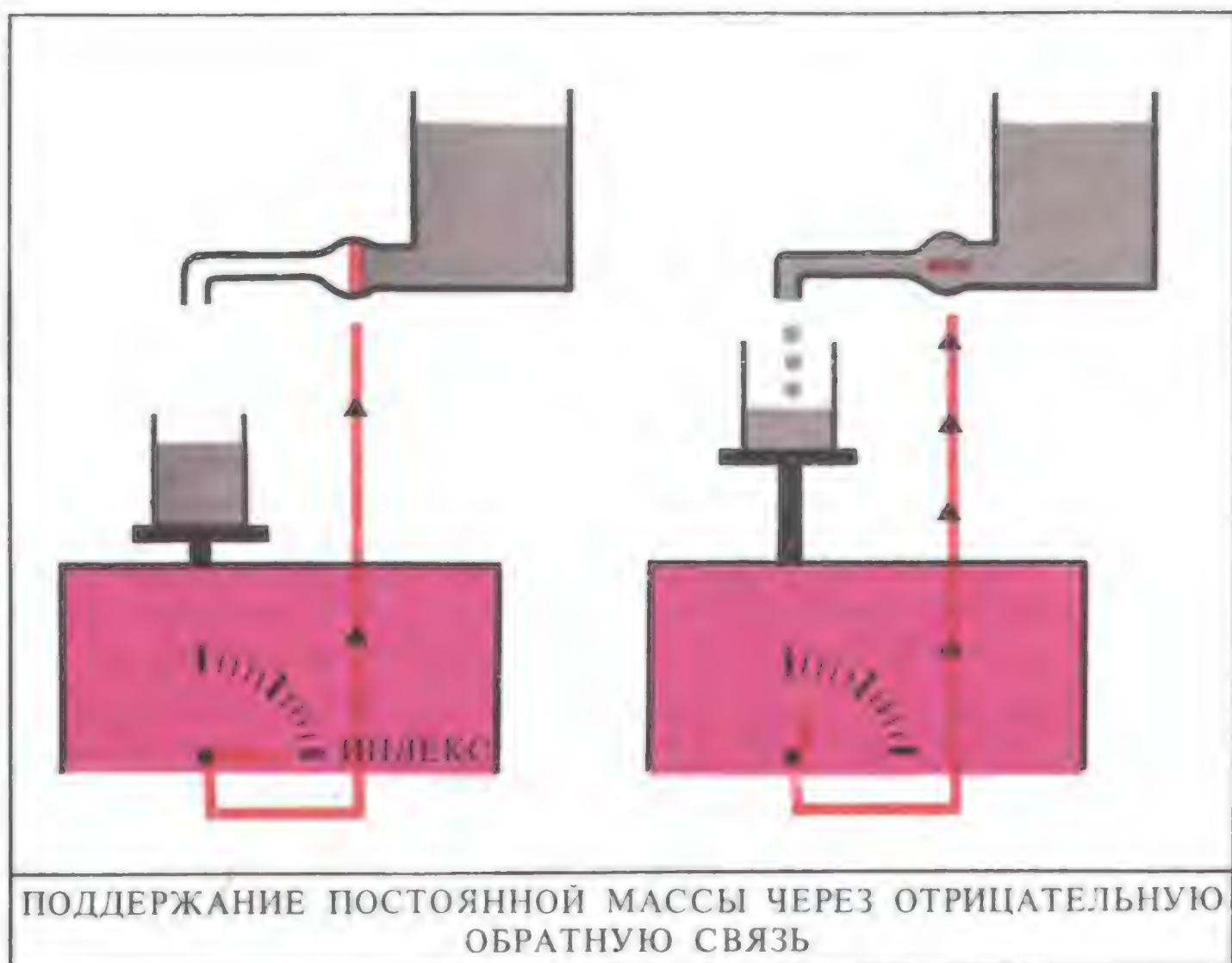
Даже отдельные органы подвержены строгим ограничениям роста, и здесь существуют «невидимые границы», далее которых рост запрещен. Это очень легко проследить на примере печени: если удалить две трети печени крысы, то спустя некоторое время оставшаяся часть вновь вырастает до размеров нормальной печени. Однако столь энергичный рост резко прекращается, едва орган достигает первоначальных размеров.

Итак, размеры органа ни в коей мере не определяются простым случаем. Какие же силы регулируют этот процесс? Опосредованные механизмы, такие, как нервная стимуляция или даже гормональные сдвиги, несомненно, принимают в нем участие, однако решающие регуляторные импульсы исходят, видимо, от самой ткани. И здесь мы подходим к рассмотрению «регуляторного поля» ткани, поскольку именно оно, судя по всему, играет важную роль в канцерогенезе.

Кибернетическая модель тканеспецифической регуляции роста

Каким образом в технике, например, решается проблема поддержания постоянного уровня жидкости? Потерю жидкости из сосуда (в результате испарения) можно компенсировать автоматически при помощи простейшей установки (фиг. 17). Весы указывают отклонение от заданной величины, после чего следует сигнал на вентиль, который и регулирует поступление жидкости. По достижении заданного уровня жидкости вентиль закрывается, и дальнейшее поступление жидкости прекращается (принцип отрицательной обратной связи).

На основе аналогичного принципа П. Вайсс разработал модель регенерации печени: отдельные клетки ткани вырабатывают ингибитор, который блокирует их деление. Так, клетки паренхимы печени вырабатывают ингибиторы для клеток паренхимы печени, клетки кожи — для клеток кожи и т. д. Одни клетки вырабатывают ингибиторы с сильным действием, другие — лишь со слабым (подробнее см. стр. 271). Сказанное помогает понять, почему при регенерации печени деление клеток сначала усиливается, а



Ф и г. 17.

после завершения регенерации рост прекращается. Для модели Вайсса не требуется проводить различия между клетками, которые вырабатывают ингибитор, и клетками, которые на него реагируют. Она позволяет избежать дилеммы, требующей, чтобы клетки, вырабатывающие ингибитор, сами не реагировали бы на него.

«Кибернетическая теория» регенерации печени постулирует существование растворимого ингибитора в среде, окружающей клетки печени, а возможно, и в циркуляторной системе всего организма («гуморальные ингибиторы»).

Регуляция регенерации печени гуморальными ингибиторами

«Литература по регенерации печени обильна и противоречива главным образом потому, что многим экспериментам не предшествовало адекватное планирование. По существу, единственным повсеместно признаваемым выводом является то, что сигналы к началу регенерации должны иметь гуморальную природу» (Буллоу).

В основе этого вывода лежат два эксперимента:

1. Путем хирургической операции двух крыс можно соединить на манер сиамских близнецов, так что их кровеносные системы срастаются (парабиоз). Если удалить часть печени *одной* из крыс, то увеличение митозов будет наблюдаться в печени *обоих* животных. Это значит, что по общей кровеносной системе информация о состоянии оперированной печени поставляется в организм неоперированного животного.

2. В аналогичном эксперименте крысе трансплантировали в необычное место дополнительный кусочек печени, после чего проводили частичную гепатэктомию. В этом случае волна митозов наблюдалась как в собственной печени животного, так и в подсаженном кусочке печеночной ткани.

Как показывают оба эксперимента, вещества, несущие сигнал, присутствуют в крови; именно это и было предсказано кибернетической теорией. Для таких веществ Буллоу предложил термин «халон». Однако наиболее важные данные, относящиеся к существованию, свойствам и механизму действия халонов, получены не на печени, а на коже. Поэтому нам вновь приходится возвращаться к ткани кожи.

Кожа как регенерирующая система («заживление раны»)

Даже в нормальных условиях происходит постоянное обновление кожи; самый верхний, роговой слой постоянно слущивается и замещается клетками из нижних слоев. У мыши весь период замещения клеток эпидермиса не превышает недели. Но особенно ярко *vis regenerativa* эпидермиса проявляется при небольших механических повреждениях, когда первоначальное состояние восстанавливается в течение нескольких дней. (Лишь в случае больших повреждений рубец формируется из клеток соединительной ткани.)

И здесь «теория халонов» предлагает правдоподобное объяснение: в результате потери клеток кожи, продуцирующих халоны, концентрация последних в клетках, окружающих рану, снижается. А пониженный уровень ингибитора вызывает усиленное деление клеток.

Чтобы проверить эту гипотезу, Буллоу, а затем Иверсен проделали следующий опыт: если халоны в самом деле существуют, то их можно экстрагировать из клеток кожи.

После инъекции водного экстракта число митозов в коже действительно снижалось наполовину, а число митозов в печени и других органах оставалось на прежнем уровне.

Буллоу изучал действие экстрактов, содержащих халоны, главным образом *in vitro* на маленьких кусочках уха мыши, но в данном случае простые экстракты из кожи не дали ожидаемого эффекта. Успеха удалось достигнуть лишь при добавлении некоторых гормонов. Однако для того, чтобы оценить эту находку, потребуются кое-какие предварительные разъяснения.

Стрессовые гормоны подавляют митозы

Уже давно известно, что в тканях взрослых животных число митозов подчиняется суточному ритму. Во время сна в эпидермисе животного делится большее число клеток, чем во время бодрствования.

В суточном ритме колебания в уровне адреналина сдвинуты по фазе: у бодрствующего животного уровень адреналина высок, тогда как у спящего животного он снижен. Буллоу обнаружил, что между митотической активностью эпидермиса и уровнем адреналина в крови существует обратно пропорциональная зависимость. Инъекции адреналина или стрессовые ситуации, которые ускоряют выброс адреналина в кровь, ведут, как и ожидалось, к подавлению митозов. Другой стрессовый гормон, гидрокортизон, точно так же оказывает антимитотическое действие. Таким образом, с адреналином и гидрокортизоном эффект действия халонов может быть продемонстрирован *in vitro* (Буллоу).

Эпидермальный халон в эксперименте *in vitro*

В типичном опыте культивируемый препарат содержит кусочки кожи в 4 мл питательной среды (глюкоза/соли/буфер) вместе с экстрактом кожи и 10 мкг адреналина и гидрокортизона. Митозы останавливаются добавлением колхицина и спустя четыре часа эксперимент прекращают. Кусочки кожи фиксируют и окрашивают, после чего подсчитывают число митозов. При соответствующих условиях добавление экстракта кожи вдвое снижает число митозов; адреналин и гидрокортизон необходимы в качестве «коингибиторов».

Колхицин не имеет непосредственного отношения к эксперименту, он лишь останавливает митозы и тем самым облегчает их подсчет. При этом все митозы, которые наблюдаются во время эксперимента, могут быть подсчитаны вместе в конце опыта.

Экстракты, приготовленные аналогичным образом из других органов, не оказывали влияния на кусочки кожи; и наоборот, экстракты кожи никак не влияли на клетки печени и других органов. Следовательно, эффект халона органоспецифичен.

Митозы в коже уха мыши могут быть эффективно приостановлены не только с помощью экстракта кожи мыши, но и с помощью препаратов из кожи трески, свиной кожи и даже кожи человека. Видимо, халоны *не имеют видовой специфичности*.

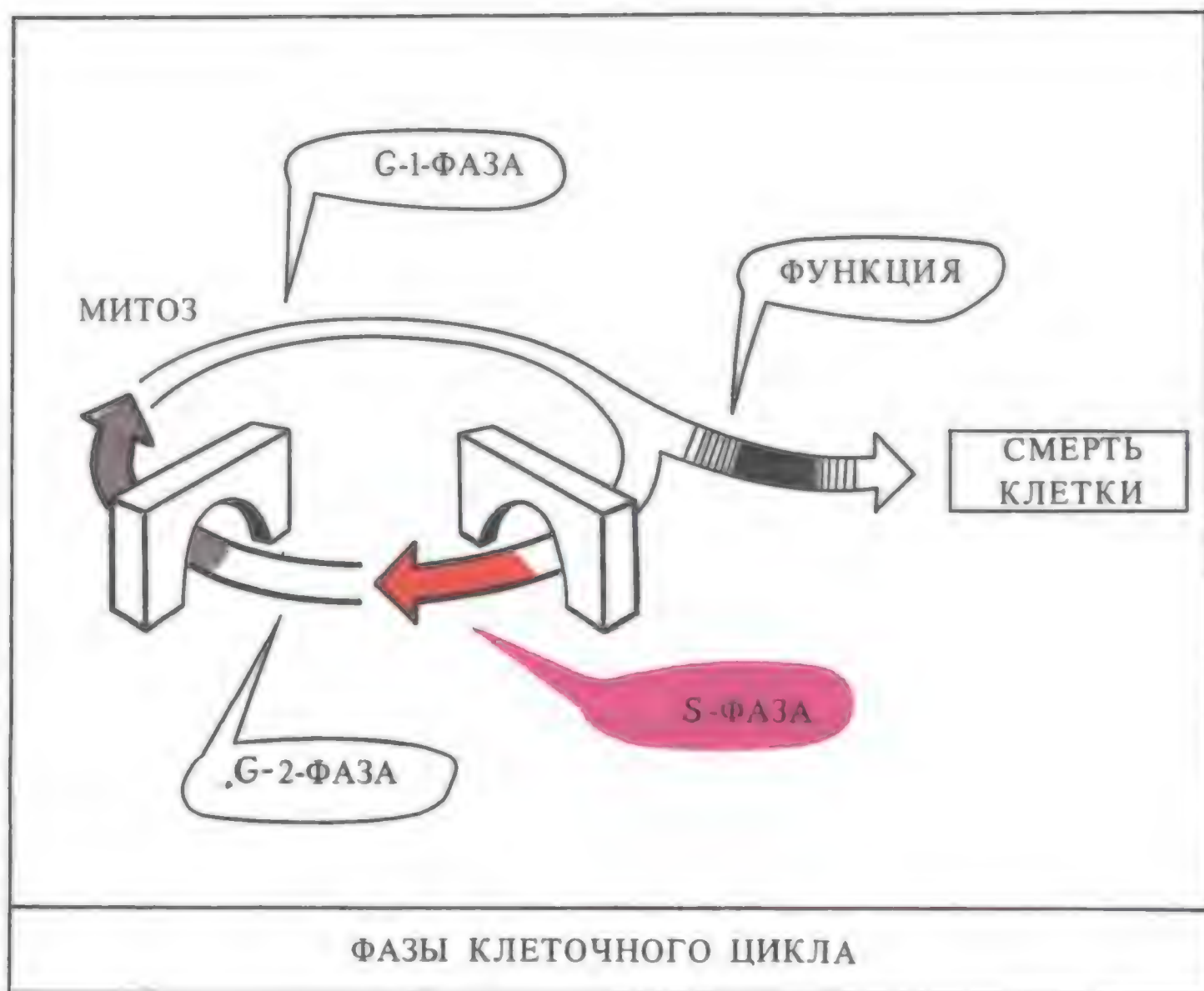
Предварительная характеристика эпидермального халона

На бойне фармацевтической фирмы «Органон» скапливаются большие количества свиной кожи. В сотрудничестве с Буллоу биохимическая исследовательская лаборатория фирмы получила возможность экстрагировать в довольно больших количествах эпидермальный халон свиной кожи. 60 — 80%-ное осаждение в спиртах и электрофорез позволили добиться 2000-кратного обогащения препарата. Как показали анализы, препарат является белком, возможно гликопротеидом. Седиментационный анализ при аналитическом ультрацентрифугировании позволил установить, что его молекулярный вес 30 000—40 000 (Хондиус — Боулдинг).

Халоны могут непосредственно останавливать митоз

Чем объясняется ингибирующий эффект халонов? Каков механизм остановки митоза? Обратимся вновь к клеткам кожи, в частности к базальным клеткам эпидермиса. Клетки этого слоя представляют собой резервуар, из которого поступают все лежащие выше так называемые дифференцированные кератинообразующие клетки, которые формируют верхний роговой слой.

Жизненный цикл этих клеток в соответствии с терминологией цитологов может быть разделен на фазы. После



Ф и г. 18.

фазы, в которой синтезируется ДНК (S-фаза), наступает промежуточная фаза (G-2), за которой следует митоз. Завершает клеточный цикл фаза G-1. (Клетки, которые больше не делятся, выходят из цикла и вступают в так называемую «функциональную фазу».) Теперь вопрос можно сформулировать так: блокируют ли халоны S-фазу или митоз, иными словами, «закрывают они дверь» до вступления клетки в митоз или до вступления в фазу синтеза ДНК?

Уже через четыре часа Буллоу наблюдал значительное изменение числа митозов. Поскольку клеточные фазы (S и G-2), наступающие до митоза, занимают более четырех часов, халоны действительно «закрывают дверь» непосредственно перед митозом. Однако именно с этого момента и начинаются проблемы: в ткани, где клетки удваивают свою ДНК и блокируются непосредственно перед митозом, должно быть много клеток с удвоенным содержанием ДНК (так называемые $4n$ -клетки). Но во многих тканях и, к сожалению, в эпидермисе этого не наблюдается. Следовательно, приходится предположить вторую блокировку пе-

ред S-фазой. Недавние исследования показали, что имеются не только тканеспецифические ингибиторы, которые блокируют митоз, но и ингибиторы, которые «закрывают дверь» до наступления S-фазы (Элгё, Маркс). Эти ингибиторы, по-видимому, и являются истинными халонами.

Альтернативы теории халонов: раневые гормоны

Теория халонов — не единственная теория, пытающаяся объяснить регенерацию. С ней соперничает теория раневых гормонов. Согласно последней, сами клетки поврежденной ткани вырабатывают стимулирующие факторы. Клетки как бы «дремлют»; для их пробуждения необходима дополнительная стимуляция. Поиски таких стимуляторов, получивших название раневых гормонов, ведутся и сегодня. Однако убедительных доказательств пока нет. «Несмотря на более чем полувековые усилия все эти вещества остаются гипотетическими, и пока хоть одно из них не будет экстрагировано и охарактеризовано, сомнителен сам факт их существования» (Буллоу). Что же касается тканеспецифических ингибиторов, то здесь поиски оказались успешными. Поэтому рассмотрим внимательнее теорию халонов.

Халоны как репрессоры

Для того чтобы привести в движение маятник, следует либо подтолкнуть его («раневой гормон»), либо отпустить, предварительно приподняв («теория халонов»).

«Стимуляция» или «удаление ингибитора» оказывают равный эффект, но их механизмы в корне различны. В одном случае клетки нужно подтолкнуть к делению, а в другом достаточно снять тормоз и клетки будут свободно развиваться далее.

Эмбриональное развитие, по-видимому, являет собой пример тормозящего эффекта: в процессе развития клетки ткани делятся, а в конце развития деления тормозятся и затем останавливаются.

Та же проблема — стимуляция или удаление ингибитора — обсуждалась при рассмотрении индукции фермента у бактерий. *E. coli* растут нормально в среде с глюкозой в качестве источника углерода. Однако можно культивировать эти бактерии и в среде, вместо глюкозы содержащей лактозу, но в таком случае *E. coli* должны прежде синте-

зировать специфические ферменты, которые затем смогут «переваривать» лактозу (галактозидаза). Индуцирование этих ферментов лактозой в питательной среде обуславливает рост бактерий даже при таких отличающихся от нормы условиях.

Ранее полагали, что клетки «обучались» производить галактозидазу лишь после контактирования с лактозой. В соответствии с современной концепцией клетки *E. coli* с самого начала «знают», как производить галактозидазу. Однако это знание проявляется лишь в тех случаях, когда в нем возникает необходимость, то есть когда клетка вынуждена использовать лактозу. Если лактозы в среде нет, то ферменты, расщепляющие лактозу, не продуцируются из соображений экономии.

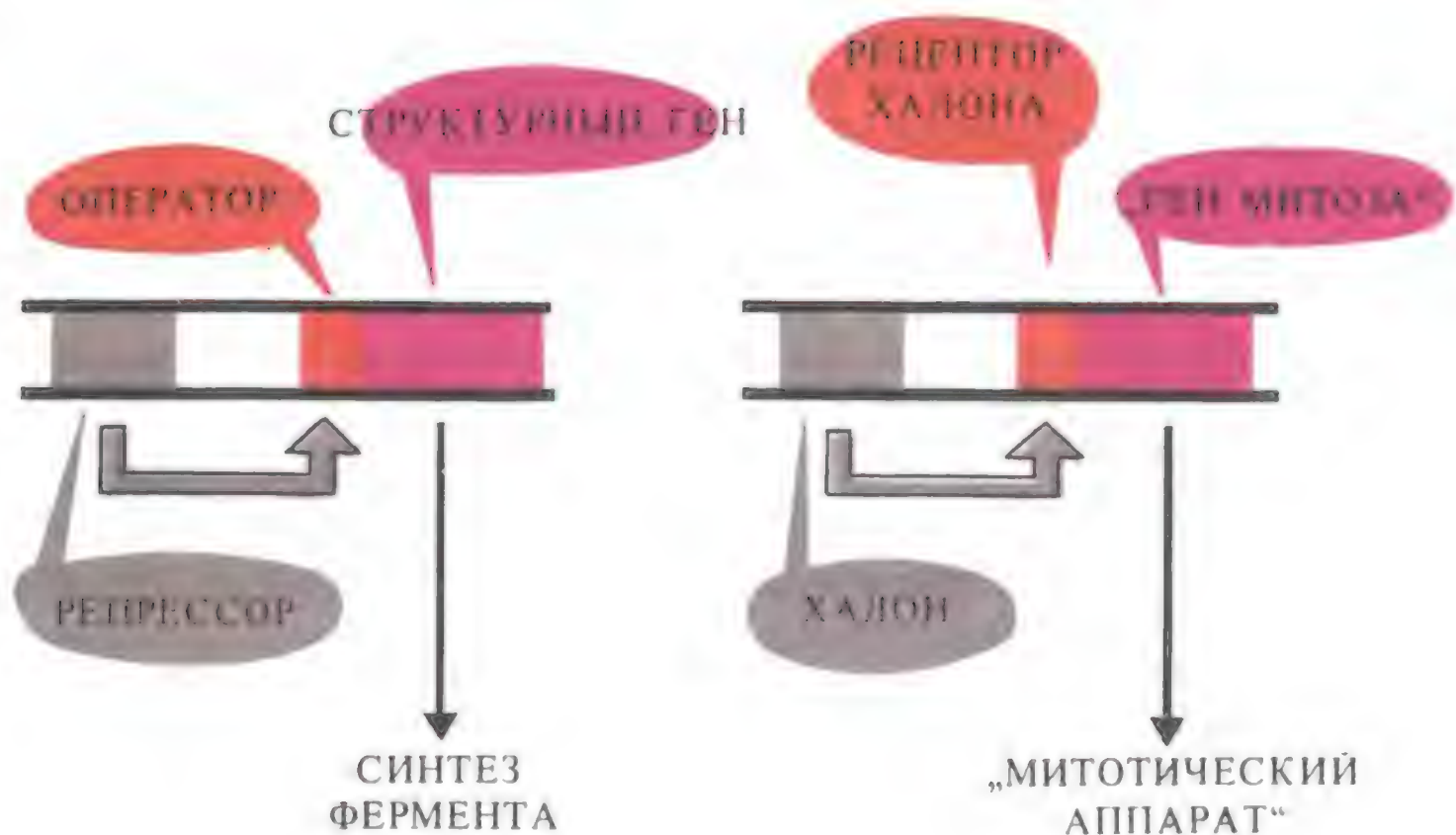
Мы лишены возможности обсуждать здесь в деталях, как осуществляется индукция фермента. Но в результате многих экспериментов и обсуждений сформировалась следующая схема (модель Жакоба — Моно).

Специфический репрессор галактозидазы обычно подавляет активность гена галактозидазы, в котором запрограммирована структура фермента («структурный ген»). Для этого репрессор должен взаимодействовать с «геном-оператором», соседствующим со структурным геном. Если клетка вступает в контакт с лактозой, репрессор галактозидазы начинает взаимодействовать с этим сахаром и вскоре «выбывает из игры». Он более не в состоянии закрывать оператор, и структурный ген может теперь приступить к производству фермента.

Таким образом, индукция фермента не является индукцией посредством матричного субстрата, а осуществляется благодаря снятию подавления, которое прежде препятствовало синтезу необходимых ферментов.

Схему индукции бактериального фермента можно перенести и на теорию халонов (фиг. 19). В данном случае халон соответствует репрессору, однако он подавляет не отдельный определенный ген, а комплекс генов, необходимых для проведения митоза. Лocus комплекса генов митоза, к которому прикрепляется халон, называют рецептором халона; он должен соответствовать классическому оператору.

Правда, до сих пор не ясно, прикрепляются ли халоны непосредственно к этому рецептору, или они способствуют выработке веществ, которые связываются с рецептором. Многие исследователи усматривают здесь первичную ре-



Ф и г. 19.

акцию между халоном и клеточной мембраной, однако для нашего последующего рассмотрения не важно, действует ли халон на генном уровне или на уровне мембраны.

Опухолевые клетки как халоновые мутанты

Бактериальные клетки порой «забывают» об экономии; тогда, даже без необходимости, они начинают производить — иногда в огромных количествах — ненужную галактозидазу. В таких случаях этот фермент становится частью стандартного набора ферментов-мутантов («конститутивные мутанты»). Модель Жакоба — Моно предусматривает две возможности возникновения таких конститутивных мутантов: происходит повреждение либо репрессора, либо оператора. В обоих случаях эффективная блокировка структурного гена становится далее невозможной: синтез фермента происходит даже без инактивации субстрата репрессором.

Для опухолевых клеток может быть сконструирована очень сходная модель:

1. Клетка может снизить или вовсе прекратить выработку халона, в результате чего развивается халоновая недостаточность и появляется дополнительный стимул к митозам.

2. Клетка может потерять способность реагировать на

халоны (ее «антенны», настроенные на халоны, то есть рецепторы, бездействуют). В этом случае клетка становится на путь автономного роста.

В обоих случаях достигается одинаковый результат: ген митоза, деятельность которого в норме четко регламентируется, входит в режим непрерывного функционирования.

Заместительная терапия опухолей с недостатком халона

Из всего сказанного выше следует простой вывод: все опухоли, которые не утратили халоновых рецепторов и которые просто испытывают недостаток халона, должны быть чувствительными к лечению дополнительным халоном. Такие опухоли, вероятно, существуют: Буллоу описал эпидермальный рак, рост которого может быть ингибирован эпидермальным халоном (порошком из кожи). Это так называемая VX-опухоль кролика, трансплантируемая опухоль, первоначально вызванная вирусом Шоупа. Источником халона служили экстракты свиной кожи.

Правда, все, что Буллоу удалось показать,— это эффект *in vitro*: добавление порошка из кожи в инкубационную среду снижало число митозов в срезах опухолевой ткани. Для «лечения» *in vivo* материала оказалось недостаточно, несмотря на массовое производство препарата из свиной кожи. И все же VX-опухоль была не единственным случаем: Рютемаа обнаружил хлоролейкемию, чувствительную к халону, а Мору удалось с успехом лечить меланомы хомячка и мыши с помощью порошка из кожи.

Действие порошка из кожи свиньи на меланомы обнаружилось случайно: Мор пытался при помощи этого препарата повлиять на рост карцином кожи, индуцированных канцерогенами. В этих опытах подкожно трансплантированные меланомы должны были служить в качестве контрольных опухолей, но результаты оказались прямо противоположными: карциномы кожи оставались нечувствительными к действию препарата (за исключением заметного очищения раны), в то время как меланомы подвергались регрессии. Они чернели, размягчались, а затем поглощались окружающей тканью или отторгались. Когда прошло первое изумление, оказалось, что эти результаты вписались в «теорию халонов»: кожа, и кожа свиньи в том числе, содержит нормальные меланоциты, которые при произ-

водстве халонов также естественно подвергаются экстракции. Но нормальные меланоциты содержат «меланоцитный халон», а последний в свою очередь подавляет рост клеток меланомы.

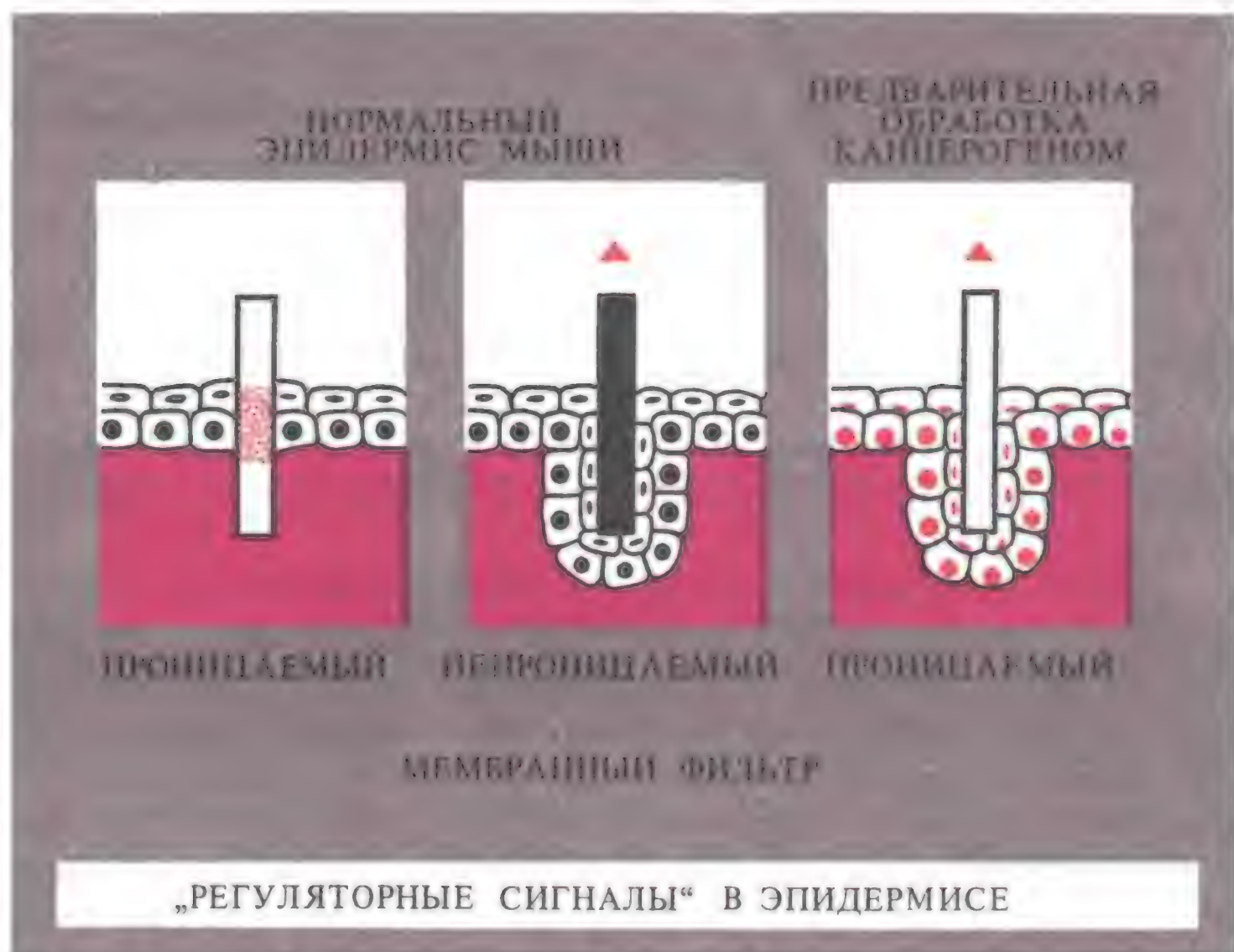
Буллоу не был первым, кто пытался воздействовать на опухоли органами экстрактами. В обширной литературе по этому вопросу зарегистрированы и более ранние как успешные, так и безуспешные попытки. Ныне теория халонов дала «алхимии органических экстрактов» рациональную основу, а системы Буллоу *in vitro* впервые сделали возможным постановку точных экспериментов. И все же реальная возможность использования халонов в лечении спонтанных опухолей представляется в высшей мере сомнительной.

Халоны: общий принцип

Исследования халонов привлекли внимание ученых в связи с возможным, хотя и сомнительным, их использованием в физиологической терапии опухолей. Халоны почек, легких и матки будто бы удалось изолировать. Однако неаккуратное экстрагирование и неправильное терапевтическое применение вскоре заставили усомниться в самом принципе халонов. Видимо, не следует отказываться от дальнейшей разработки проблемы, ибо, помимо отрицательных факторов регуляторов роста, вполне возможны и положительные. Описано множество веществ, стимулирующих рост; наибольшую известность получил так называемый нервный фактор роста. Был также очищен и изолирован эпителиальный фактор роста из слюнной железы мыши (Коэн). Почему бы и в физиологической регуляции роста не быть двум взаимодействующим — стимулирующим и ингибирующим — импульсам?

«Видимые» регуляторные поля

В изящном и удивительно простом эксперименте Фуджи и Мицуно удалось наблюдать обмен сигналами между клетками эпидермиса. Исследователи имплантировали маленькие кусочки мембранного (миллиметрового) фильтра в эпидермис и отделяли одни эпидермальные клетки от других (фиг. 20). В тех случаях, когда были использованы пропитанные парафином и непроницаемые для воды фильтры,



Ф и г. 20.

клетки плотным слоем росли вокруг имплантированного фильтра до тех пор, пока между ними вновь не возникал контакт. Клетки не могли «слышать» сквозь фильтр сигналы от соседних клеток, между тем как проницаемые мембраны, по-видимому, обеспечивали прохождение некоторых сигналов, и обрастания клетками имплантата не наблюдалось. Но эпидермальные клетки, ранее контактировавшие с канцерогеном, вели себя иначе. Даже при имплантировании проницаемой мембраны приема сигналов не было отмечено и клетки росли вокруг мембраны так, словно она была пропитана парафином.

Напрашивается простое объяснение: клетки, обработанные канцерогеном, посылают ослабленные сигналы, которые не проникают сквозь фильтр, и регуляторное поле снижается до нулевого уровня. Возможна и другая интерпретация: сила поля осталась прежней, однако приемное устройство (клеточные мембраны?) утратило способность на него реагировать. Мы еще вернемся к этому вопросу в следующей главе, когда будем рассматривать клеточные мембраны.

Заключение

Халон — новое название старой проблемы. Во взрослом организме деление клеток ткани строго контролируется. В случае регенерации деление клеток разрешается лишь в определенных пределах: по достижении первоначальных размеров регенерирующего органа митозы вновь блокируются. П. Вайсс разработал кибернетическую модель, объясняющую эти явления: клетки ткани, по-видимому, вырабатывают ингибиторы, которые в свою очередь воздействуют на эти же клетки (принцип отрицательной обратной связи).

При регенерации печени циркулирующие в крови и лимфе сигнальные вещества несут в себе важную информацию о регенерации. Ингибиторы, специфические для кожи, могут быть выделены из клеток кожи и изучены (так называемые «эпидермальные халоны»). При помощи таких препаратов могут быть ингибированы *in vitro* митозы в эпидермисе, правда, лишь в присутствии так называемых стрессовых гормонов — адреналина и гидрокортизона (Буллоу). Буллоу определил халоны как тканеспецифические ингибиторы, требующие в качестве коингибиторов адреналин и гидрокортизон.

Теория халонов позволяет создать модель опухолевой клетки: потеря халонов, с одной стороны, и способности реагировать на халоны, с другой, ведет к неопластическому росту. Опухолевые клетки с очень низким содержанием халонов, но с интактными рецепторами сохраняют способность ингибироваться халонами. Такие халон-зависимые системы опухолей (VX-опухоль кролика, хлоролейкемия, меланомы?), по-видимому, действительно существуют. Клинически важные опухоли, такие, как раки кожи, индуцированные углеводородами, или трансплантируемый рак легкого, устойчивы по отношению к эпидермальному халону.

Можно перефразировать известное изречение: «Если бы халонов не существовало, их следовало бы выдумать». И даже если это только выдумка, то выдумка, давшая толчок многим исследованиям.

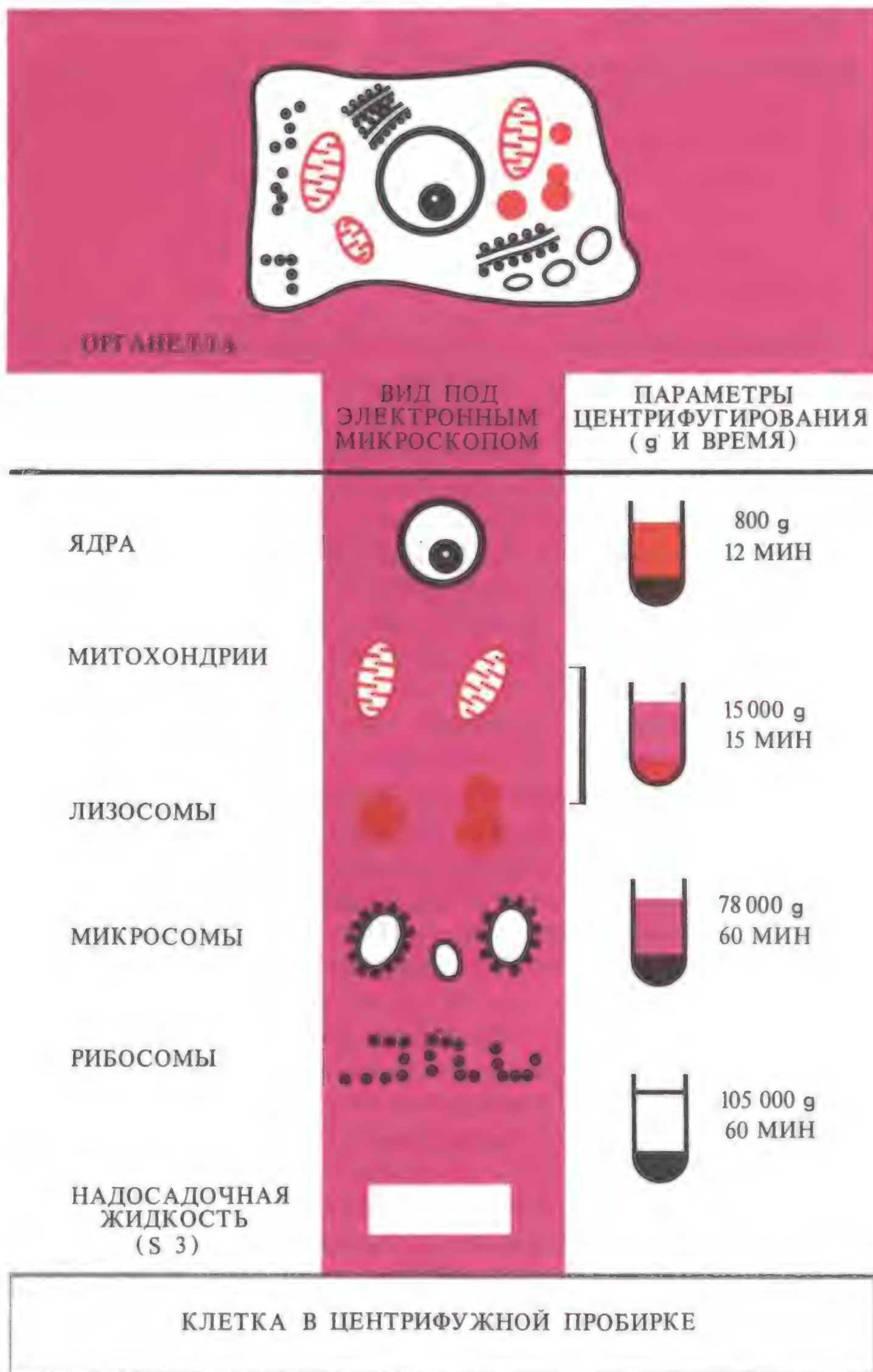
Канцерогенез и клеточные органеллы

Первым цитологам клетка представлялась весьма простой: она состояла из внешней мембраны и ядра. Тело клетки было заполнено протоплазмой — веществом ни твердым, ни жидким, которое, очевидно, и было носителем жизни. Ученые повсеместно пытались, используя простые модельные системы, вывести секреты протоплазмы. Бючли, например, экспериментировал с искусственными коллоидальными капельками воды, гвоздичного масла, глицерина и поташа. Помещая их между предметным и покровным стеклами микроскопа, он наблюдал за «движениями». Модели протоплазмы пытались построить не только ученые-зоологи; во многих лабораториях «мыслители и философы» пытались проводить эксперименты с природой, ожидая от нее чудесных явлений, искушая ее. Мысль о том, что живая и неживая природа едины, в одинаковой степени привлекала и ученых-профессионалов, и дилетантов. Считалось, что простые модели могут послужить ключом к разгадке секретов клетки. Но, несмотря на все усилия, проникнуть в суть протоплазмы исследователи не смогли.

Сегодня мы знаем, что живая клетка подчиняется физическим и химическим законам, однако имитировать клетку с помощью простой физико-химической модели невозможно. Клетки высших организмов — чрезвычайно сложные структуры. Помимо ядра с течением времени были открыты многие другие органеллы клетки. Более того, даже ядро оказалось возможным разделить на ряд морфологически различных компонентов.

Внутреннее строение клетки

С появлением электронного микроскопа исследователи смогли получить важную информацию о внутреннем строении клетки (фиг. 21). Благодаря ему стали видимыми



Ф и г 21.

структуры и субструктуры, приближающиеся к молекулярному уровню. (Если бы на целое животное удалось взглянуть, образно говоря, электронно-микроскопическим глазом, изображение крысы имело бы длину 40 км!) Протоплазма, которая ранее казалась однородной, оказалась заполненной пластинчатыми структурами (ламеллами), пузырьками (везикулами), гранулами и канальцами. На фиг. 21 очень схематично показаны наиболее важные органеллы клетки. В целях упрощения масштаб не соблюден.

Но хотя электронный микроскоп и позволил увидеть внутренние структуры клетки, он не смог на первых порах ответить на вопрос, какую роль все эти структуры играют в клеточном метаболизме. Первые ответы относительно функций клеточных органелл были получены с помощью ультрацентрифуги — прибора, позволяющего достигать ускорения, которое более чем в 100 000 раз превышает ускорение свободного падения тела на Земле (g). Такого ускорения оказалось достаточно для осаждения мельчайших органелл клетки.

Выделение клеточных органелл с помощью ультрацентрифуги

Принцип разделения прост: чем больше органелла клетки, тем быстрее она осаждается в гравитационном поле ультрацентрифуги. Ядра, например, могут осаждаться в течение 12 мин уже при 800 g . Для меньших структур — митохондрий — достаточно 15 000 g в течение 15 мин. Таким образом, клеточные органеллы могут быть разделены в соответствии со своими размерами (см. фиг. 21).

Прежде всего необходимо разрушить клеточные мембраны, но так, чтобы другие органеллы не были повреждены. Однако именно в этом и заключается трудность проблемы. Многие методы приготовления клеточного гомогената непригодны для выделения органелл: при набухании клеток в гипотоническом солевом растворе мембраны клеток лопаются, но одновременно с этим страдают и мембраны клеточных органелл.

Обычно пользуются надежным методом с применением так называемого гомогенизатора Поттера — Эльвейема. Гомогенизатор состоит из стеклянной трубки и подогнанного к ее размерам подвижного пестика. При вращении

пестик то опускается, то поднимается; в результате клетки, вновь и вновь проходя между ним и стенкой трубки, лопаются под влиянием разрывающих сил. Клеточные органеллы, размеры которых значительно меньше, остаются целыми.

Еще легче достигнуть разрушения клеток с помощью так называемого французского пресса. Согласно этому методу, клетки сначала подвергают высокому давлению в камере с азотом. При резком снятии давления образующиеся мельчайшие пузырьки газа разрывают клеточную мембрану, причем органеллы клетки не подвергаются сколько-нибудь существенному воздействию. (Сходные механизмы способствуют развитию кессонной болезни у ныряльщиков.)

Однако подобный метод разрушения клеточных мембран сам по себе все-таки не гарантирует получения неповрежденных органелл. Поэтому органеллы должны быть изолированы по возможности в «естественной» среде. С этой целью чаще всего пользуются изотоническими солевыми растворами и изотоническими растворами сахарозы. Кроме того, оказалось, что для некоторых клеточных органелл особенно благоприятны гипертонические растворы сахарозы. Двухвалентные катионы таких металлов, как кальций или магний, в следовых количествах способствуют повышению стабильности клеточных органелл. И наконец, следует применять буферные смеси, обеспечивающие нейтральный pH гомогената.

Клетка — химическая фабрика

Уже в начале текущего столетия клетку стали рассматривать как «химическую фабрику». Производство гликогена и выделение мочевины живыми клетками очень напоминало производство анилиновых красителей или серной кислоты в промышленности. Казалось бы, без видимых усилий клетка способна осуществлять процессы, для которых в современной химической промышленности потребовалась бы дорогостоящая технология. Но, как говорится, внешность обманчива: в клетке имеется своя и весьма жесткая организация труда, разнообразнейшие метаболические пути четко отделены друг от друга.

Управляет производством ядро: оно «составляет» планы, по которым на рибосомах происходит сборка белков.

В свою очередь конвейерные ленты по производству белка разделены на стационарные и подвижные: рибосомы, связанные мембранами (гранулированный эндоплазматический ретикулум), и свободные рибосомы. Митохондрии же почти полностью специализируются на производстве энергии.

Каждой из этих органелл приписывали особо важную роль в возникновении опухолевой клетки.

- Основное подозрение падает на *ядро*, которое как носитель генетического материала, естественно, находится в центре внимания всех теорий по генетике рака.

- На следующем месте находятся *митохондрии*, к которым, как к органам клеточного дыхания, особый интерес пробудился в связи с теорией Варбурга о возникновении рака.

- За последние несколько лет на передний план выдвинулись исследования по *клеточным мембранам*. Через мембраны осуществляется связь между отдельными клетками, а следовательно, определяется и их способность держаться вместе. Не исключено, однако, что они являются также важными чувствительными органами клетки, которые получают регуляторные импульсы от организма.

- Даже *лизосомы* не свободны от подозрения: именно их Аллисон считает подлинными канцерогенами, которые в свою очередь активируются внешними канцерогенами, такими, как химические вещества, облучение или вирусы.

- Если мы здесь обходим молчанием *эндоплазматический ретикулум* (микросомы), то только из-за недостатка места. Эта проблема нашла отражение в недавней работе Пито и сотрудников.

- По этой же причине мы не касаемся роли надосадочной фракции (S3-фракции).

А теперь вкратце рассмотрим возможную роль в канцерогенезе каждой из упомянутых органелл, начиная с ядра.

Ядро и канцерогенез

Если именно ядро — главный орган клетки, то ядро опухолевой клетки несет ответственность за неопластические свойства этой клетки. Экспериментальное подтверждение этот простой вывод получил уже давно.

а. Измененные характеристики хромосом во многих опухолевых клетках прямо указывают на изменения в ядре. Но даже невидимые изменения наследственного материала соматических клеток («мутации») в конечном итоге отражают не что иное, как изменения в ядре. В главе «Рак и наследственность» мы рассмотрим такие изменения подробнее.

б. В покоящемся ядре дифференцированной соматической клетки (так называемое интерфазное ядро) были идентифицированы две морфологически различные формы хромосом. Одни участки хромосом своей плотной упаковкой напоминают «гетерохроматин», другие имеют вид свободно упакованного «эухроматина». Обе формы хроматина различаются и своей биохимической активностью: так, эухроматин синтезирует больше РНК, чем гетерохроматин, а актиномицин (вещество, блокирующее синтез РНК на ДНК) в шесть раз интенсивнее связывается эухроматином, чем гетерохроматином.

В соматической клетке генетическая информация, заключенная в хромосомах, расшифровывается лишь частично. В клетке печени, например, вся информация, присущая нервной клетке или клетке почки, должна подавляться. Таким образом, хромосомы соматической клетки содержат активные и пассивные гены. Активные гены, и только они, вырабатывают информационную РНК и тем самым дают начало синтезу специфических ферментов, которые в конечном итоге ответственны за специфическую активность клетки. На основании сказанного можно сделать вывод, что эухроматину соответствуют активные, а гетерохроматину — пассивные, подавленные гены.

Эухроматин и гетерохроматин можно различить не только под микроскопом; их можно разделить и препаративным путем. Для этого ядра облучают ультразвуком и центрифугируют с различной скоростью. Тяжелая фракция, полученная после непродолжительного центрифугирования на низкой скорости (1000 g, 10 мин), состоит главным образом из гетерохроматина, а легкая фракция (78 000 g, 60 мин) — преимущественно из эухроматина.

При канцерогенезе под действием диэтилнитрозамина доля гетерохроматина в ядре печени возрастает; по данным Харберса, через 40 дней прирост достигает около 20%. Доля «активного» эухроматина соответственно снижается. Общее же содержание ДНК в клетке остается постоянным. Это

означает, что доступная генетическая информация в процессе развития опухоли сокращается; число активных генов уменьшается. В эту картину хорошо вписываются более ранние данные относительно обеднения опухолей органоспецифическими ферментами, поскольку частичная утрата эухроматина означает подавление в клетке органоспецифических синтезов.

С этой точки зрения некоторые ученые рассматривают канцерогенез как «гетерохроматизацию» (Зандриттер): генетическая программа клетки, по-видимому, перестраивается. На этом мы пока отложим дальнейший анализ вплоть до того момента, пока не рассмотрим и не сопоставим важнейшие теории опухолевого роста.

в. Помимо ДНК, самым важным компонентом хромосом следует считать так называемые *гистоны* — белки с высоким содержанием лизина и аргинина. Высокое содержание этих основных аминокислот позволяет осуществлять прочную «солевую» связь между ДНК (кислотный компонент) и гистонами (основный компонент).

Долгое время считалось, что именно гистоны покрывают некоторые участки ДНК и таким образом «инактивируют» ее. Правда, от этого объяснения пришлось отказаться после того, как гистоны подверглись более тщательному анализу и было обнаружено, что имеется всего около 10 различных типов гистонов (которые можно разделить путем электрофореза в акриламидном геле). Каким образом столь ограниченное число гистонов в состоянии специфически блокировать тысячи различных участков генетической информации нити ДНК?

Сегодня специалисты в области молекулярной биологии склонны полагать, что специфическая РНК вместе со специфическим белком-репрессором определяет, где и когда следует блокировать ДНК. Гистоны же менее специфичны в этом отношении.

Тем не менее ряд авторов описали различие между гистонами нормальной и опухолевой клетки. Буш, например, сообщил о фракции гистона (RP2-L), которую он обнаружил только в клетках карциномы Уолкера; в нормальных клетках эта фракция отсутствовала. Все попытки выявить этот необычный гистон в других опухолевых клетках оказались безуспешными.

Подводя итог сказанному, мы можем утверждать, что роль ядра в опухолевой клетке пока выяснена далеко не

полностью. В предположениях недостатка нет, но доказательств мало. Все же, надо надеяться, мы на правильном пути. Накопленные данные свидетельствуют о том, что неопластические свойства опухолевой клетки являются наследственными, а также о том, что основная функция ядра — передача наследственных свойств.

Лизосомы

Де Дюв назвал лизосомы «набором для самоубийства». Эти органеллы клетки по размерам чуть меньше небольших митохондрий; именно этим и объясняется то обстоятельство, что открыты они были сравнительно поздно. Лизосомы содержат «заряд» гидролитических ферментов, которые, помимо прочего, способны расщеплять белки и нуклеиновые кислоты. Обычно эти средства саморазрушения надежно спрятаны в лизосомах. Если же клетке наносится урон, они высвобождаются и принимают активное участие в уничтожении остатков клетки. Как можно полагать, лизосомы играют важную роль в воспалительных реакциях. В сферу же онкологических исследований лизосомы попали благодаря наблюдениям Аллисона.

Лизосомы захватывают канцерогенные углеводороды

Аллисон проследил за захватом полициклических углеводородов живой клеткой. Исследование проводилось в культуре ткани для исключения косвенных воздействий с использованием полинуклеарных углеводородов, поскольку последние легко выявляются методом флуоресцентной микроскопии. Этот прямой микроскопический метод позволяет избежать обмена канцерогенными веществами между клеточными органеллами в процессе гомогенизации и фракционирования клеток.

При флуоресцентной микроскопии ядра клеток оставались темными, а цитоплазма давала свечение в ультрафиолетовых лучах. Граффи предположил, что свечение вызывают митохондрии, однако Аллисон показал, что флуоресценция обусловлена лизосомами; участки, где наблюдались флуоресценция и локализация лизосомных (гидролитических ферментов), оказались сходными. Как предположил Аллисон, канцерогены высвобождают лизосомные ДНКазы, которые в свою очередь атакуют ядерную ДНК.

Лизосомные ДНКазы как канцерогены

Лизосомы содержат ДНКазу, которая способна расщеплять двухтяжевую ДНК, разрушая оба тяжа. Этот фермент позволяет даже расщеплять *in vitro* изолированные хромосомы. Разрушить хромосомы можно и *in vivo*, если только повредить лизосомы; последнее можно осуществить избирательно с помощью удивительно простого метода.

При обработке живых клеток нейтральным красным окрашиваются только лизосомы. Если теперь клетки с «красными» лизосомами облучить зеленым светом (который поглощается красными частицами), то произойдет избирательное разрушение лизосом (повышение чувствительности к свету).

Если представления Аллисона верны, то обычный безвредный краситель в сочетании со светом определенной длины волны может оказаться *канцерогенным*. При повышении чувствительности к свету в культуре почечных клеток хомячка Аллисону удавалось иногда наблюдать трансформированные клетки. «Наши исследования дают немало оснований полагать, что повреждение лизосом способно вызвать злокачественную трансформацию клеток или облегчать такую трансформацию, которая происходит спонтанно». Трансформация *in vitro* при повышении чувствительности к свету не принесла сколько-нибудь убедительного успеха. Это и не удивительно, поскольку трансформация *in vitro* вообще проблематична. Если опустить трансформацию посредством онкогенных вирусов, «искусственное» получение опухолевых клеток *in vitro* труднодостижимо, и даже проверенные канцерогены в таких опытах нередко не дают эффекта.

Было бы гораздо проще окрасить кожу мыши в красный цвет и затем облучить ее. Для «красной» мыши зеленый цвет должен был бы послужить канцерогенным стимулом. Но такой эксперимент до сих пор не поставлен, хотя имеются довольно сходные примеры из медицины — например, порфирия. При этом заболевании кожа больного также обладает повышенной чувствительностью к свету. Это вызвано тем, что пигменты (порфирины) с нарушенной структурой повышают чувствительность клеток к свету. В случае серьезных повреждений кожи возникают злокачественные опухоли. (Еще в 1930 г. Бюнгелеру удалось

доказать, что порфирию можно имитировать у животных: у подвергнутых интенсивному солнечному облучению мышей опухоли кожи развиваются чаще, если их при этом обработать эозином или гематопорфирином.)

К сожалению, не все имеющиеся данные укладываются в эту концепцию. Одним из наиболее серьезных противоречий является тот факт, что неканцерогенные вещества (например, антрацен) также захватываются лизосомами. Вместе с тем исследователи продолжают накапливать сведения, указывающие на участие лизосом в процессе канцерогенеза, поэтому мы не вправе исключить возможность, что эти клеточные органеллы играют в канцерогенезе бóльшую роль, чем предполагалось ранее.

Клеточные мембраны, клеточная «социология» и канцерогенез

Все началось со случайного наблюдения. Коман заметил, что опухолевые клетки легче отделяются друг от друга, чем нормальные. Он обратил на это внимание, когда пытался разделять эпидермальные клетки при помощи микроманипулятора. Оказалось, что межклеточные связи опухолевых клеток менее прочные, чем у нормальных клеток; судя по всему, их социальное поведение основательно нарушено.

Итак, нам предстоит перейти к практической «социологии» клеток и внимательнее рассмотреть природу контактов между отдельными клетками. Осуществляют эти контакты клеточные мембраны, поэтому нет ничего удивительного в том, что рассказ о «социологии» клеток будет одновременно рассказом и о поверхностных свойствах опухолевых клеток.

Клеточная «социология» в культуре ткани

Клетки, выращиваемые в колбе или на чашке Петри, активно перемещаются по стеклянной поверхности сосуда. Если одна «путешествующая» клетка встречает другую, то обычно между ними происходит контакт, в результате чего дальнейшее продвижение клетки приостанавливается.

Однако при этом не только блокируется подвижность клетки, но и возникают радикальные изменения в процессе обмена веществ. В результате синтез ДНК останавливается и дальнейшее деление клетки становится невозможным.

Такое подавление деления клетки как следствие клеточного контакта часто называют «контактным торможением». Контактное торможение служит эффективной защитой против перенаселения в культуре ткани: когда клетки сплошным слоем покрывают дно сосуда и каждая из них оказывается в окружении других клеток, дальнейшее деление невозможно.

Что же касается опухолевых клеток, то они ведут себя иначе: они мигрируют мимо окружающих их клеток — как если бы это было простое стекло — и не прекращают деления, даже когда образуется клеточный конгломерат. По-видимому, опухолевые клетки просто не «видят» друг друга, и превентивные меры против перенаселения оказываются недейственными.

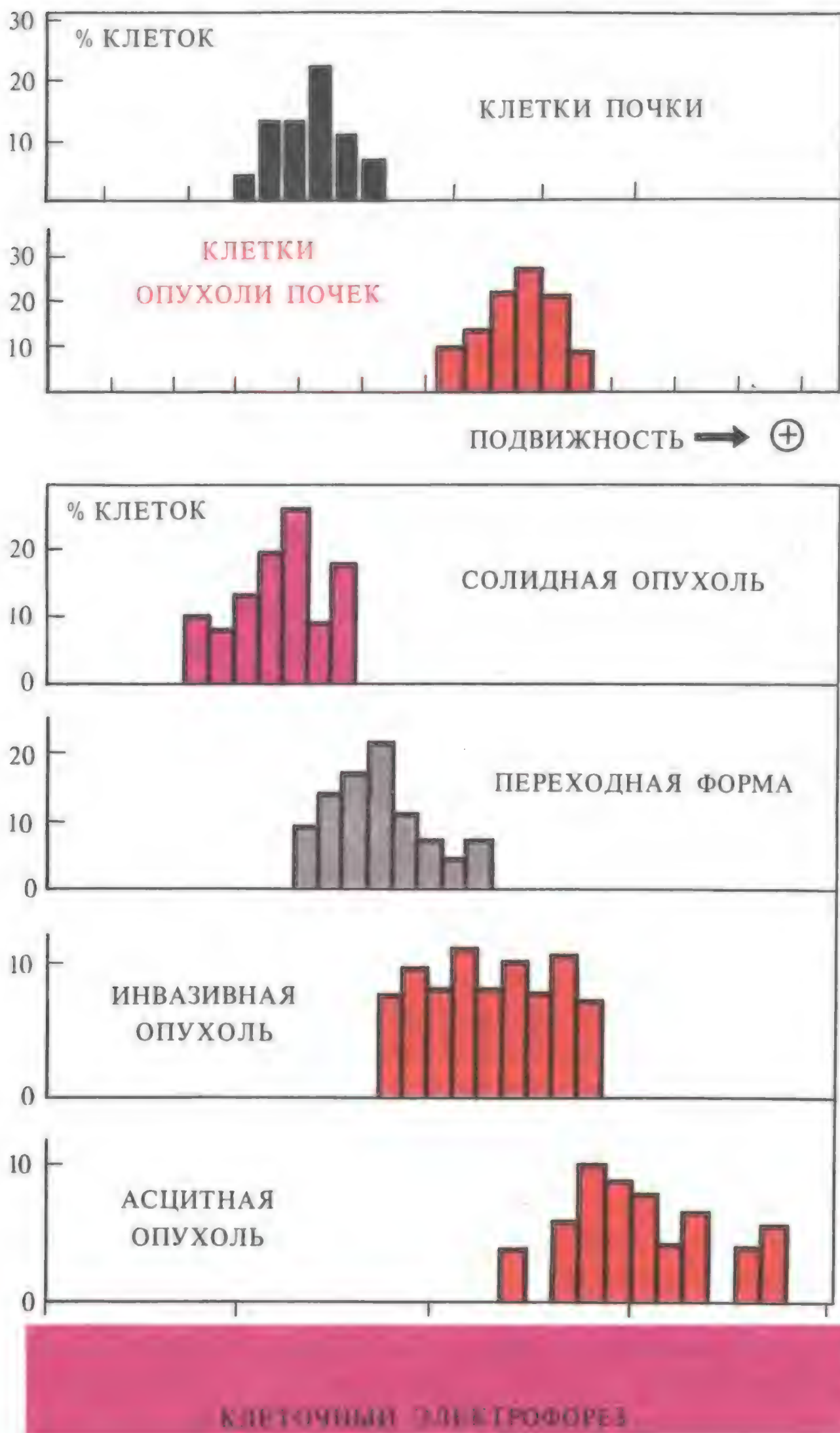
В организме животного опухолевые клетки ведут себя так же, как и в культуральном сосуде: клетки с нарушенным контактным торможением *in vitro* проявляют злокачественный, инвазивный рост и *in vivo*; иными словами, «антисоциальное» поведение клеток в животном соответствует их «антисоциальному» поведению в культуре.

Изменение мембран в опухолевых клетках

Нарушенное «социальное» поведение опухолевых клеток как в зеркале отражается в измененных клеточных мембранах. Начальную информацию о свойствах таких мембран легко получить при проведении электрофореза целых клеток. Исследуемые клетки суспендируют в подходящей среде в прозрачной камере. Под микроскопом можно наблюдать их передвижение под влиянием электрического поля. Подсчет перемещающихся клеток производится автоматически. Скорость перемещения зависит от плотности заряда поверхности клетки.

Этот метод позволил исследовать клеточные суспензии из со́лидных¹ опухолей (рака почки, гепатомы). Как оказалось, опухолевые клетки имеют больший отрицательный заряд по сравнению с нормальными клетками. На фиг. 22 приведен пример такой форограммы (Амброуз): на оси ординат показаны процентные соотношения клеток в общей популяции в соответствии с указанной на оси абсцисс подвижностью.

¹В отличие от асцитных, растущих в виде сплошной массы клеток. — Прим. ред.



Ф и г. 22.

Трансформированные клетки полиомы также отличаются от нетрансформированных фибробластов повышенной «отрицательной мобильностью». Рутенстрот-Байер получил сходные результаты при исследовании лейкозных клеток: гранулоциты или лимфоциты соответственно типу лейкоза замещались на более подвижные клетки.

Злокачественность опухолевых клеток и скорость их перемещения в электрическом поле, по-видимому, явления взаимосвязанные. Амброуз исследовал клетки из целой серии опухолей: солидной, метастаза и асцитной (все опухоли развились из одной и той же первичной опухоли). В этой серии связи между отдельными клетками ослабевали; в асцитных клетках связи настолько слабы, что клетки растут изолированно друг от друга. Что же касается избыточного отрицательного заряда, то он, наоборот, возрастал в этой серии в том же порядке (см. фиг. 22).

Нейраминовая кислота и фосфолипиды сообщают клеточным мембранам отрицательный заряд

Косвенные методы позволили сделать выводы относительно природы веществ, вызывающих избыточный отрицательный заряд опухолевых клеток:

1. При обработке клеток ферментом нейраминидазой происходит расщепление нейраминовой кислоты без разрушения всей клеточной мембраны. Клетки, обработанные нейраминидазой, менее подвижны в электрическом поле и могут терять до 90% своего избыточного отрицательного заряда.

2. Фосфолипиды клеточных мембран связывают ионы кальция. Клеточные мембраны, покрытые ионами кальция, также имеют меньший отрицательный заряд, в связи с чем клетки медленнее передвигаются в электрическом поле. (Предварительная идентификация фосфолипидов как носителей отрицательного заряда проводилась на моделях, а также на основании тщательного анализа зависимости подвижности клеток и заряда синтетических фосфолипидов от величины рН.)

3. Недавно было высказано предположение о том, что нуклеиновые кислоты также могут способствовать повышению отрицательного заряда мембран.

В некоторых лейкозных клетках почти весь избыточный заряд может быть снят за счет обработки нейраминидазой.

В клетках асцитной опухоли Эрлиха отрицательный заряд, по-видимому, вызывают другие анионы. Бóльшая подвижность трансформированных клеток полиомы по сравнению с нетрансформированными, очевидно, почти полностью определяется содержанием в них нейраминовой кислоты: после обработки нейраминидазой подвижность клеток снижается до уровня нормальных фибробластов.

Силы, связывающие клетки между собой

Шопенгауэр описал, как «однажды морозным зимним днем семейка ежей собралась вместе, стремясь согреться за счет тепла соседа. Но иголки соседей ежи почувствовали раньше, чем их тепло, и компания распалась. Когда же в поисках тепла они порой вновь собирались вместе, то всякий раз чувствовали иглы соседей. И тогда из двух зол они выбрали меньшее — предпочли держаться друг от друга на разумном расстоянии». Итак, силы сцепления и силы отталкивания определили дистанцию между ежами. Силы сцепления и отталкивания должны быть сбалансированы и в отношениях между клетками.

Отталкивание в первую очередь обуславливают на поверхности клетки одноименные заряды. Избыточный отрицательный заряд одной клетки вызывает отталкивание другой клетки, если она также заряжена отрицательно (закон Кулона).

Силы сцепления состоят из нескольких компонентов: помимо дополнительных поверхностных структур, решающую роль играют ионы кальция. Эти двухвалентные ионы связывают отдельные клетки в гигантские комплексы. Кальций можно отмыть из среды, заполняющей пространство между клетками, соединениями типа этилендиамин-тетраацетата (ЭДТА). ЭДТА обладает бóльшим сродством к ионам кальция, чем отрицательные структуры на поверхности клетки, в результате образуется комплексное соединение («хелат») кальция и ЭДТА. Так, зародыши земноводных могут быть разбиты на клетки за счет обработки ЭДТА. Разделение таких эмбриональных клеток обратимо; после добавления кальция клетки собираются вновь и даже продолжают прерванное эмбриональное развитие.

Правда, обычно клетки связаны не просто кальциевыми мостиками. Нормальные взрослые клетки выделяют в меж-

клеточное пространство вещества, которые способствуют их слипанию. Слипшиеся (агглютинированные) клетки, естественно, нельзя разделить, прибегая к помощи хелатирующих агентов. Необходимы более сильные агенты, способные растворить белоксодержащие промежуточные вещества. Обычно в таких случаях пользуются трипсином. При использовании 0,4%-ного раствора трипсина при 37°C можно разделить маленькие кусочки ткани на отдельные клетки. Сегодня трипсинизация стала одним из важнейших методов культивирования тканей. Но этот метод требует очень тонкого обращения: если кусочки ткани долго подвергать трипсинизации, возможны достаточно серьезные повреждения клеток.

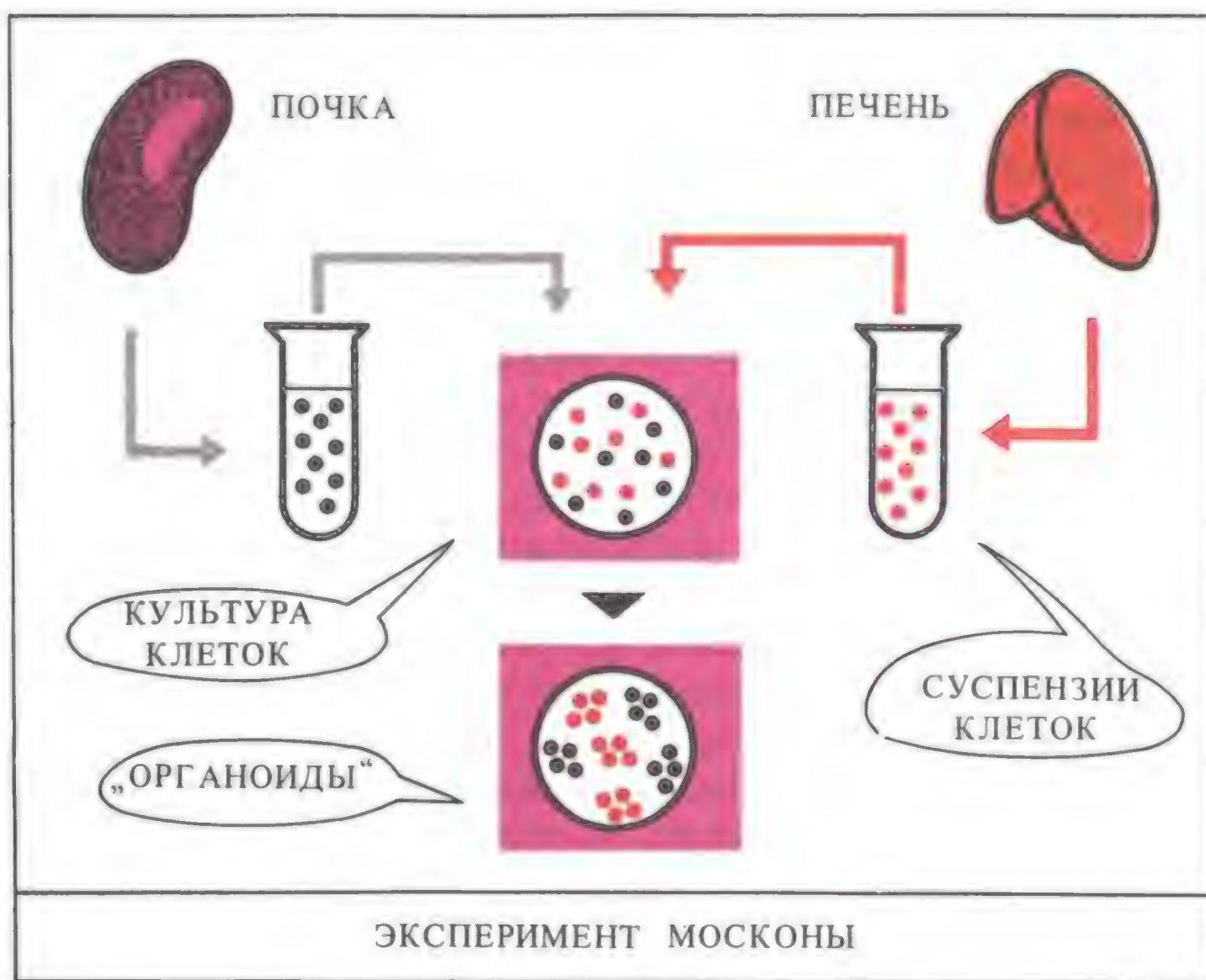
Подводя итоги сказанному, можно заключить словами Амброуза: «В формировании межклеточной адгезии силы отталкивания Кулона, по-видимому, слабее сил сцепления — кальциевых мостиков. Стабилизация контактов осуществляется за счет белковой секреции клеток в межклеточное пространство».

Клеточные контакты специфичны

Клетки весьма разборчивы. Не между всеми клетками возникают сильные связи: клетки должны подходить друг к другу. Первые указания на специфическое связывание клеток были получены во время экспериментов на губках. Губки способны к диссоциации на отдельные клетки и к воссоединению. При диссоциации губок различных штаммов и при смешении клеток наблюдалось воссоединение клеток в целые комплексы в соответствии с их принадлежностью к определенному штамму; губки из смешанных клеток не образовывались.

Даже клетки млекопитающих избегают контактов с инородными клетками: если, например, ткань крысы поместить в культуру органа мыши, то ткань крысы обособляется от ткани мыши.

И наконец, Москоне удалось доказать, что клетки отдельных органов способны «узнавать» друг друга. Будучи смешанными, клетки почки и печени «узнавали» друг друга и образовывали отдельные комплексы, микроскопическая структура которых напоминала исходные интактные органы (фиг. 23).



Ф и г. 23.

Нормальные клетки могут управлять опухолевыми клетками

Клетки асцитной опухоли — прирожденные индивидуалисты: они размножаются в асцитной жидкости, как если бы были одноклеточными организмами. Причины такого поведения — избыточный отрицательный заряд клеток: силы электростатического отталкивания преобладают над возможными тенденциями к воссоединению.

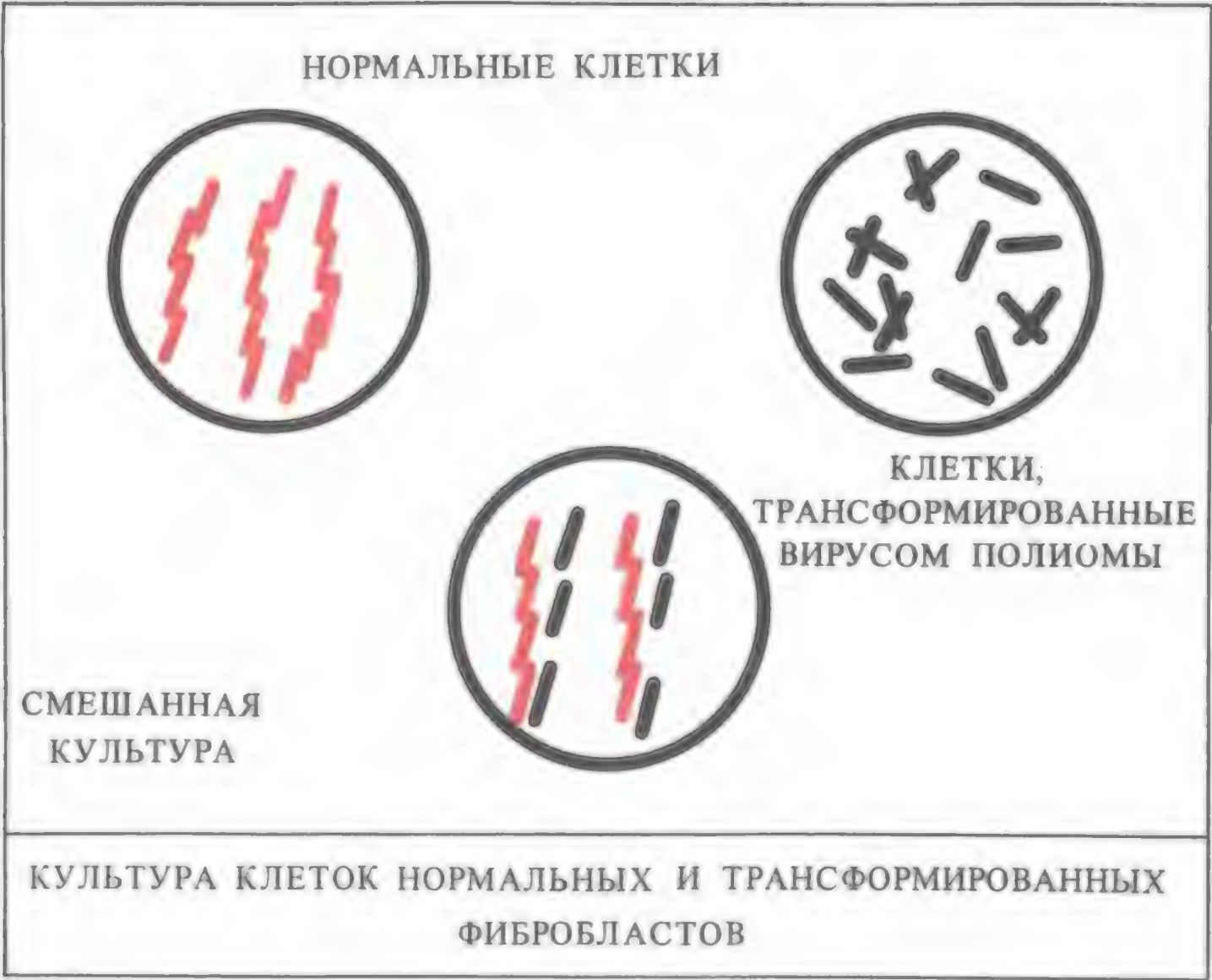
Однако и таких индивидуалистов можно перехитрить. При встряхивании асцитной жидкости — по Москоне — в течение длительного периода (33 дня) образуются плотные комплексы из мезенхимных и эпителиальных компонентов (Шляйх). Гистология таких опухолевых органоидов при определенных условиях позволяет получить сведения о происхождении асцитных опухолевых клеток.

Метод продолжительного встряхивания дал также удивительные результаты с клетками HeLa: эти клетки растут в культуре ткани в виде одного слоя. Однако при встряхивании их с мезенхимными клетками образуются много-

клеточные комплексы независимо от того, принадлежат ли эти мезенхимные клетки цыплятам, крысе или даже человеку. Следовательно, взаимодействия между нормальными и неопластическими клетками, безусловно, играют важную роль в поведении опухолевых клеток.

Стоукер изучал подобные взаимодействия на другом примере: он добавлял трансформированные вирусом полиомы фибробласты к культуре нормальных фибробластов, способных к контактному торможению. В то время как клетки, трансформированные вирусом полиомы, проявляют все типичные признаки неопластического роста («рост навстречу друг другу и в несколько слоев»), при отдельном культивировании в смешанных культурах они располагаются параллельно нетрансформированным клеткам (фиг. 24). Одновременно подавляется и скорость их роста.

На основании полученных данных Стоукер сделал вывод, что нормальные клетки могут посылать и принимать сигналы о контакте, которые определяют ассоциацию и скорость их роста. Опухолевые клетки, наоборот, утрачивают способность посылать такие сигналы, но все еще



Ф и г. 24.

могут отвечать на них. Иными словами, при отдельном культивировании опухолевые клетки растут бесконтрольно; опухолевые клетки, которые по-прежнему сохраняют контакты с нормальными клетками, напротив, могут оставаться под «контролем».

Посылка и получение сигналов вовсе не означает, что сигналы действительно отправлены, возможно, в виде неких сигнальных веществ, вырабатываемых клетками и затем ими же захватываемых. Более вероятны непосредственные, специфически дополнительные поверхностные контакты; кроме того, такие структуры дают возможность сконструировать модель «отправителя и получателя».

Приведенные данные еще раз напоминают нам о том, что отдельная опухолевая клетка еще не является клеткой опухоли. Лишь когда в колонии опухолевых клеток накапливается достаточное их количество, они могут ускользнуть из-под контроля исходной ткани («критическая масса» колонии опухолевых клеток).

Роль мембран в канцерогенезе

В заключение еще раз рассмотрим вкратце роль мембран в развитии опухолевой клетки:

а) развитие измененной клеточной мембраны затрудняет тесные клеточные контакты;

б) агрегация большого числа клеток с нарушенным контактом облегчает их выход из-под контроля клеточной организации.

В основе объяснения обеих фаз лежит избыточный отрицательный заряд.

Однако изменения клеточных мембран самого по себе и даже измененного «социального поведения» недостаточно для объяснения канцерогенеза, поскольку и нормальные клетки выходят из-под контроля клеточной организации. Достаточно сослаться на пример кроветворной системы. В этой ткани образуются клетки, связи которых с соседями постепенно ослабевают; в конце концов они перестают подчиняться контролю тканевой организации и попадают в циркулирующую кровь в виде отдельных клеток. К таким клеткам крови относятся гранулоциты, лимфоциты и другие. По-видимому, при созревании этих клеток происходят изменения, сходные с теми, которые имеют место в канцерогенезе.

Следовательно, изменения клеточных мембран и измененное «социальное поведение» не являются единственными причинами развития опухолевых клеток. Вместе с тем эти факторы существенно необходимы для автономного роста опухоли.

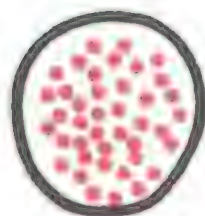
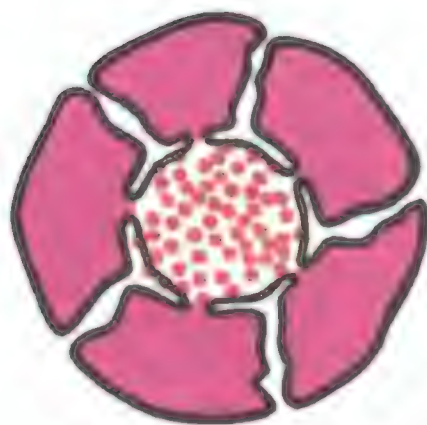
Краткая история развития клеточных мембран

Лишь благодаря мембране клетка обретает индивидуальность. Таким образом, «коацерваты», которые, по мнению Опарина, плавали в первичном бульоне, еще не были клетками в полном смысле этого слова. Клетки появились лишь с «изобретением» клеточных мембран. Поэтому можно говорить, что история развития клетки ведет свое начало с мембраны.

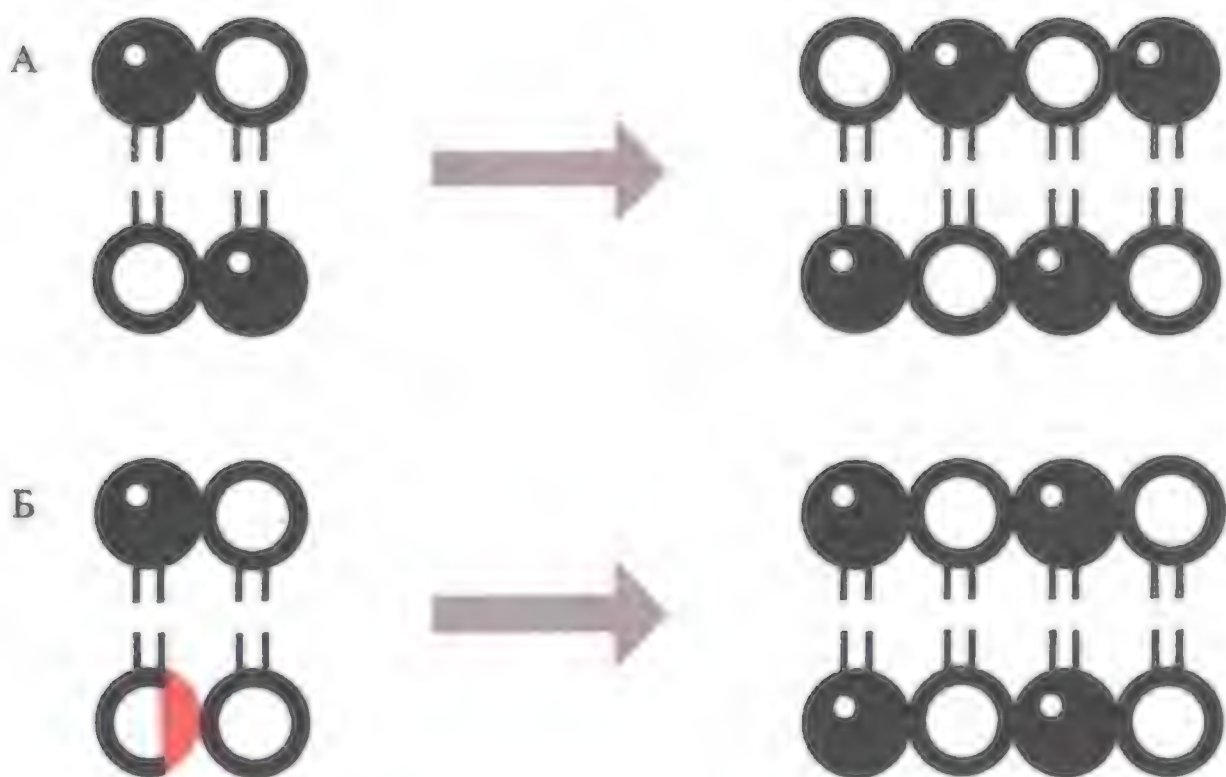
В процессе эволюции клеточные мембраны подверглись существенным изменениям. Уже давно они не просто отделяют клетки друг от друга. Сегодня клеточные мембраны нечто большее, чем инертное покрытие капелек протоплазмы. Они регулируют выход и захват веществ, необходимых клетке, помогают клетке активно захватывать нужные вещества и накапливать их. Кроме того, мембраны обеспечивают постоянную внутреннюю среду в клетке. Высокая концентрация ионов калия в клетке млекопитающих при низком содержании калия в окружающей среде — хорошо известный пример стабильности клеточной среды.

Опухолевые клетки во все возрастающей мере становятся чуждыми своим соседям; будучи одетыми в измененные клеточные мембраны, они перестают узнавать друг друга. Однако изменения мембран означают не только изменения поверхностных свойств. Они отражаются и на жизнедеятельности внутренних структур клетки. Клетку высших организмов можно рассматривать как сложную систему, состоящую из многих слоев и сети мембран. Робертсон предложил схему развития клетки — от простой до высокодифференцированной (фиг. 25). Изменения в этой системе затрагивают не только внешние мембранные слои.

Итак, в отдельной клетке мембраны занимают ключевую позицию. Их особая роль в клетке позволила ученым предположить, что клеточные мембраны способны к самовоспроизводству. Известное изречение "*Omnis cellula e cellula*" можно перефразировать не только как "*Omne DNA e DNA*", но и как "*Omnis membrana e membrana*".



ЭВОЛЮЦИЯ МЕМБРАН



МОДЕЛЬ РЕПЛИКАЦИИ МЕМБРАНЫ

Ф и г. 26.

Разумеется, воспроизводство мембран, контролируемое ими же, еще не означает, что мембраны могут сами создавать свои строительные блоки. Недавнее открытие микросомной ДНК, по-видимому, вновь оставляет вопрос открытым, хотя автономная репликация означает лишь, что мембраны способны производить «сборку» материала, произведенного клеткой, в соответствии со своими требованиями. Правила сборки весьма несложны (белое связывает черное, черное связывает белое). Эта простая модель позволяет понять, каким образом нарушение, вызванное канцерогеном, способствует перманентному изменению мембранной структуры (фиг. 26).

Указания на существование таких «мембранных мутантов» были получены на парамеции (Зоннеборн), однако на клетках млекопитающих сходных наблюдений не было.

Представление о самовоспроизводящихся мембранах позволяет сделать заманчивые выводы: для появления опухолевой клетки не обязательны изменения ядра. Это значит, что неопластическое изменение клеточных мембран может наследоваться дочерними клетками без одновременных изменений в структуре ДНК.

Существует ли «контактное торможение»?

Факторы роста против него

До сих пор мы допускали, что контактное торможение возникает как следствие контакта между клетками: клетки растут до тех пор, пока контакты со всех сторон не начинают сдерживать их дальнейший рост.

Как полагают, в организме деление клеток находится под контролем благодаря наличию ингибиторов, вырабатываемых тканью (мы называли их «халонами»). Если перенести это представление на культуры клеток, это будет означать, что следует искать ингибиторы, вырабатываемые покоящимися клетками и способные специфически блокировать деление клеток.

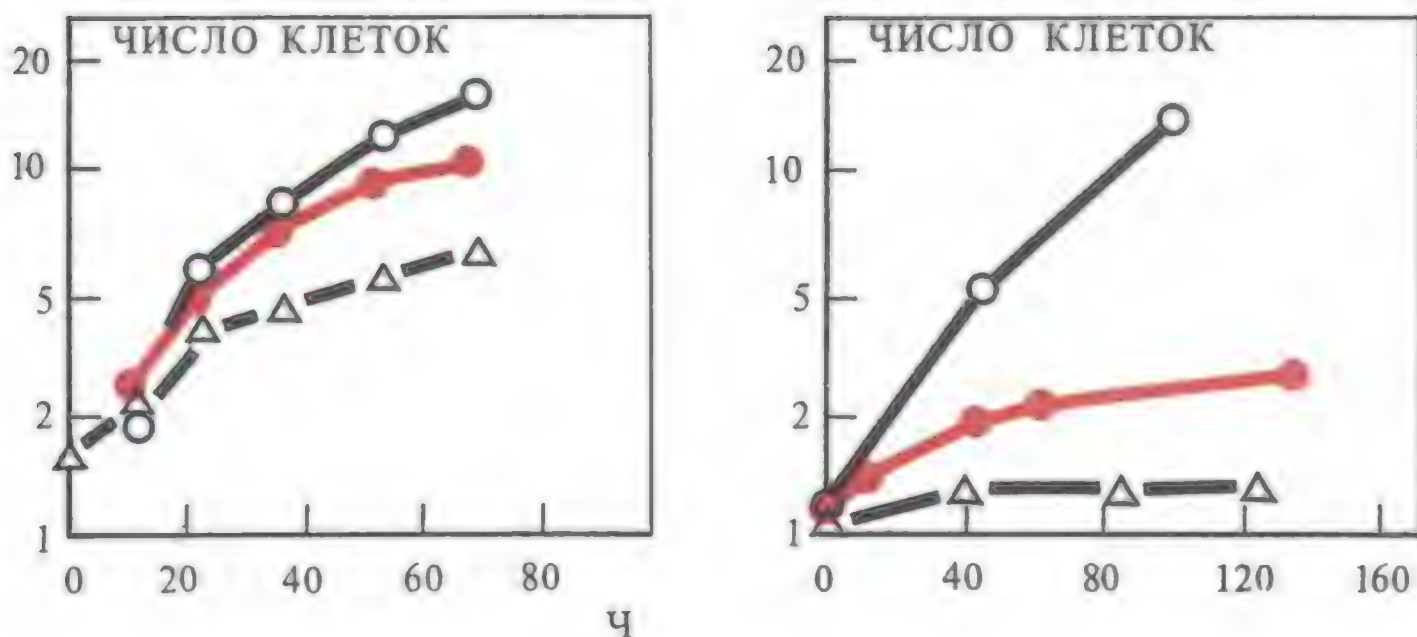
До настоящего момента поиски, по-видимому, не приносили успеха. Клетки можно культивировать на мембранных фильтрах. Если верхняя поверхность диска фильтра полностью обрастает клетками, то для новых клеток остается возможность расти на нижней поверхности. Следовательно, клетки, разрастающиеся по верхней поверхности фильтра, не вырабатывают ингибиторов.

Судя по всему, регуляторный механизм интактной ткани не играет роли в регулировании деления клеток в культуре. Однако это не значит, что контактное торможение происходит главным образом при контакте клеток. Холли нашел простое решение этой проблемы, изучая рост клеток 3Т3 (постоянный штамм фибробластов мыши).

Клетки 3Т3 демонстрируют особо яркий случай контактного торможения. В нормальных условиях культивирования они вырастают до сплошного монослоя, а по достижении этой стадии тотчас прекращают рост. При этом плотность клеток достигает 10^6 на одну чашку Петри (диаметром 6 см).

Однако исследователи давно подметили — и не только для клеток 3Т3, — что при добавлении среды, содержащей свежую сыворотку телят, в культуре клеток с остановившимся было ростом отмечается новая волна митозов. Это обстоятельство заставляет предположить, что факторы роста в сыворотке телят преобладают над контактным торможением.

Затем Холли обнаружил, что плотность клеток в культуре с контактным торможением зависит от концентрации питательных веществ в среде. Клетки 3Т3 растут до



Ф и г. 27.

различной конечной концентрации в зависимости от содержания сыворотки в среде (фиг. 27).

Но при посадке $6 \cdot 10^6$ клеток на чашку Петри культура завершает свой рост независимо от концентрации сыворотки. Это не нашло своего отражения на кривых роста. Следовательно, за окончательную концентрацию клеток в культуре клеток ЗТЗ, очевидно, ответственны один или несколько факторов роста, содержащихся в сыворотке теленка. По мере истощивания этих факторов рост прекращается.

В результате оказывается, что клетки ЗТЗ не растут в «истощенной» среде (см. рис. 27): если взять среду стационарной культуры и добавить ее к другим клеткам ЗТЗ, деления клеток не произойдет. Новые деления возможны лишь при добавлении свежей сыворотки теленка.

Опухолевые клетки ведут себя совершенно иначе: клетки ЗТЗ, трансформированные вирусом SV-40, растут даже в «истощенной» среде. Это значит, что их потребности в факторе роста значительно ниже. Сходные наблюдения были сделаны на культуре фибробластов цыпленка (Темин): нормальные фибробласты испытывали потребность в свежей сыворотке, между тем как фибробласты, трансформированные вирусом саркомы Рауса, обходились гораздо меньшими ее количествами.

Следовательно, важнейшее различие между нормальной и опухолевой клетками в культурах тканей заключается в разных потребностях в факторе роста. Имеют ли при этом место контакты, не столь существенно.

Но, пожалуй, еще рано заменять в наших мысленных построениях «контактное торможение» «факторами роста». Даже рассматриваемые совместно с мембранным контролем факторы роста, по-видимому, не дают полного представления о том, что происходит на самом деле.

Ингибиторы гарантируют контактное торможение

Вернемся вновь ненадолго к клеткам ЗТЗ, на которых особенно наглядно можно продемонстрировать контактное торможение. Что произойдет, если выращивать эти клетки в культуре с постоянно обновляемой средой (так называемая перфузионная культура)?

Если лишь факторы роста определяют максимально достижимую плотность клеток, то клетки ЗТЗ, выращиваемые в подобных условиях, должны нарастать друг на друге, образуя в итоге многослойные культуры. Именно этого и не происходит. Кастор провел киносъемку перфузионной культуры ЗТЗ и обнаружил, что эти клетки все равно растут в виде монослоев. Прибегнув к цейтраферной (замедленной) съемке, Кастор заметил то, что Холли удалось увидеть до него, а именно что эти клетки сжимаются после первичного контакта, но все же останавливают свой рост. Следовательно, даже в таких условиях конечное число клеток в культуре ограничено.

Что же тогда ограничивает рост клетки, если клеточные контакты и факторы роста не определяют всей картины? Не исключено, что контакт между клетками в достаточно плотном слое обуславливает производство ингибитора, который и останавливает деление клеток. Йе и Фишер поставили эксперимент, подкрепляющий представление других ученых о том, что такие факторы действительно существуют в «старой» среде (то есть среде от культуры с контактным торможением). Обновляя среду в культуре с остановившимся ростом, можно вызвать дополнительные митозы примерно у 6% клеток. Как ни странно, удалось также инициировать подобные «запрещенные» клеточные деления еще одним способом: «старую» среду сначала заменяли физиологическим раствором, а раствор в свою очередь вновь замещали старой средой.

Этот на первый взгляд удивительный факт можно объяснить, если предположить наличие ингибитора: физиологический раствор отмывает ингибитор и клетки вновь

оказываются готовыми к делению. Первые этапы синтеза новой ДНК и последующие митозы начинаются уже в физиологическом растворе (на основании данных по синтезу РНК, согласно Йе и Фишеру), но этот процесс не находит своего завершения в физиологическом растворе из-за недостатка питательных веществ. Последние поставляются «старой» средой, которая и заменяет физиологический раствор. Конечно, ингибитор все еще присутствует в старой среде, но, поскольку процесс, ведущий к делению, уже начался, он не влияет на начавшийся митоз. (Ингибитор имеет низкий молекулярный вес и отмывается путем диализа старой среды.)

Приведенные данные противоречат результатам описанного выше эксперимента с миллипоровым фильтром, где было показано, что клетки, образующие монослой на верхней поверхности фильтра, не выделяют ингибиторов роста. Однако это противоречие легко устранимо: ингибитор Йе и Фишера вовсе не должен подавлять растущие клетки. Его предназначение — поддерживать контактное торможение. Поэтому не следует удивляться, что он не ингибирует клетки, не находящиеся в контакте. (Правда, некоторые клетки, такие, как фибробласты WI-38 человека, изученные Гарсией-Жираттом, по-видимому, все же продуцируют вещества, подавляющие и растущие клетки.)

Анализ рассмотренных исследований непосредственно подводит нас к концепции халонов, о которой мы говорили на стр. 103. Халоны также являются ингибиторами, которые воздействуют на клетки, находящиеся в контакте в ткани (опуская сомнительные халоны лейкоза). Как отмечалось выше, концентрация халонов зависит от массы ткани. В клеточных культурах, очевидно, действуют сходные механизмы: по достижении определенной предельной плотности клеток концентрация ингибитора оказывается достаточной, чтобы остановить деление клеток во всей популяции.

Таким образом, регуляция роста в культуре ткани, какой бы искусственной она ни казалась на первый взгляд, обнаруживает очевидное сходство с регуляцией роста в интактном органе. Но этого следовало ожидать, так как поведение клеток в культуре ткани позволяет судить об их поведении и в организме животного: опухолевые клетки, которые не следуют предписанному порядку *in vivo*, не подчиняются и правилам «контактного торможения» в культуре клеток.

Рассмотрим еще раз факторы, определяющие максимальную плотность популяции в культуре ткани, даже если нарисованная нами картина и оказывается неполной:

а) наличие факторов роста самих по себе не вызывает сомнений;

б) одних ингибиторов недостаточно;

в) более того, очевидно, недостаточно и самих клеточных контактов.

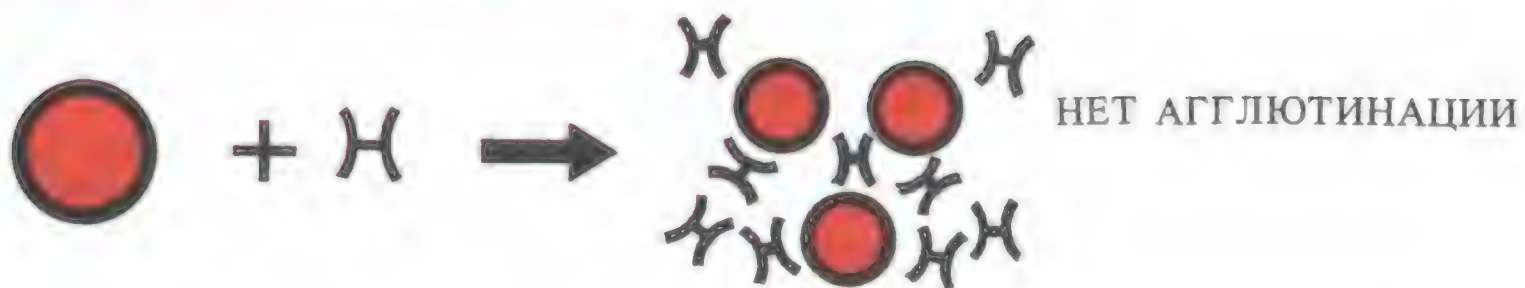
И все же ясно, что такие контакты, равно как и клеточные мембраны, играют важную роль в решении вопроса о том, будут ли клетки взаимно подавлять друг друга. Безусловно, существует нечто более важное, чем различия в свойствах поверхностей мембран опухолевых и нормальных клеток, более существенное, чем простые различия, о которых мы здесь говорили (связывание кальция, содержание нейраминовой кислоты и т. д.). Недавно удалось обнаружить различия между мембранами опухолевой и нормальной клетки, которые, возможно, имеют непосредственное отношение к фактору роста. Иными словами, была установлена причина, в силу которой опухолевые клетки растут без контактного торможения, в то время как нормальные клетки подчиняются «порядку».

Мембраны регулируют рост клеток

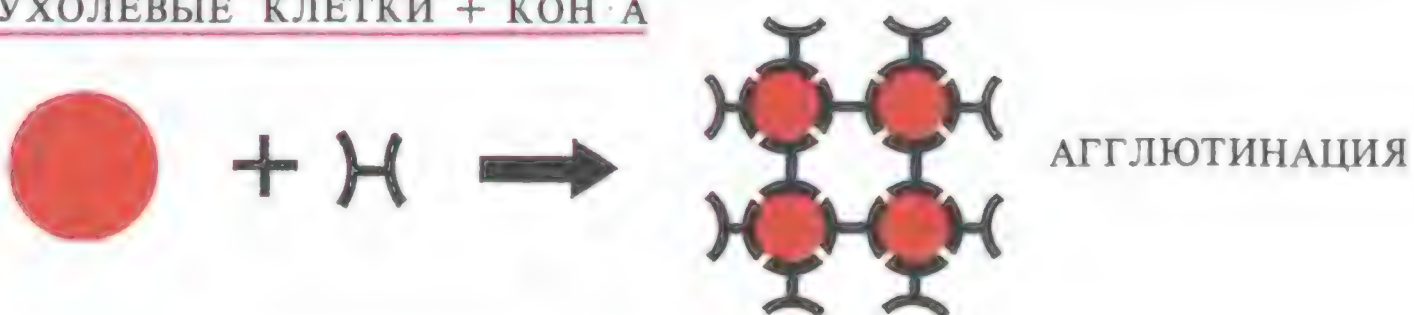
К 1963 г. ученые установили, что в зародышах пшеницы содержатся вещества, вызывающие «слипание» опухолевых клеток (Ауб). Эти вещества, агглютинины, действуют подобно антителам: они имеют по крайней мере два связующих центра и, следовательно, могут реагировать по крайней мере с двумя клетками и вызывать агглютинацию (слипание) (фиг. 28). В 1963 г. Ауб показал, что агглютинация присуща главным образом опухолевым клеткам и лишь в незначительной мере нормальным.

В последующие годы исследователи сосредоточили внимание на агглютинирующем белке из соевых бобов, который в 30-х годах был выделен Самнером в кристаллическом виде и получил название конканавалина А (Кон А). Кон А специфичен для опухолевых клеток. Однако агглютинировать могут не только опухолевые клетки: если нормальные клетки 3Т3 обработать разведенным раствором фермента трипсина, переваривающего белки, они получают способность связывать Кон А, точно так же как и трансформи-

НОРМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ + КОН А



ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ + КОН А



ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ + КОН А/2



НОРМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ В КУЛЬТУРЕ



ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В КУЛЬТУРЕ



ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ + КОН А/2 В КУЛЬТУРЕ



Ф и г. 28.

рованные клетки ЗТЗ. Очевидно, во время трипсинизации в нормальных клетках обнажаются те же связующие центры, которые всегда обнажены в опухолевых клетках. Иными словами, в нормальных клетках связующие центры скрыты, а в опухолевых обнажены.

Тогда возникает вопрос: что произойдет, если закрыть эти связующие центры в опухолевых клетках? Станут ли такие клетки снова нормальными? Для ответа на этот вопрос пришлось прибегнуть к некоторым уловкам, поскольку в данном опыте требовалось, чтобы Кон А покрыл связующие центры клеток, но не вызвал их агглютинации. Образно говоря, требовался «однорукий», одновалентный Кон А, который был бы в состоянии реагировать с одной клеткой. Его оказалось не сложным приготовить: трипсин расщепляет Кон А на два фрагмента, каждый из которых сохраняет способность реагировать с опухолевыми клетками, но не ведет к их агглютинации (Бургер).

Опухолевые клетки легко переносят обработку одновалентным Кон А. Они продолжают делиться в клеточной культуре, но (и это было неожиданностью для ученых) лишь до достижения сплошного монослоя. Иными словами, Кон А превращает их в нормальные клетки, которые вновь получают способность реагировать на контактное торможение: они становятся как бы волками в овечьей шкуре.

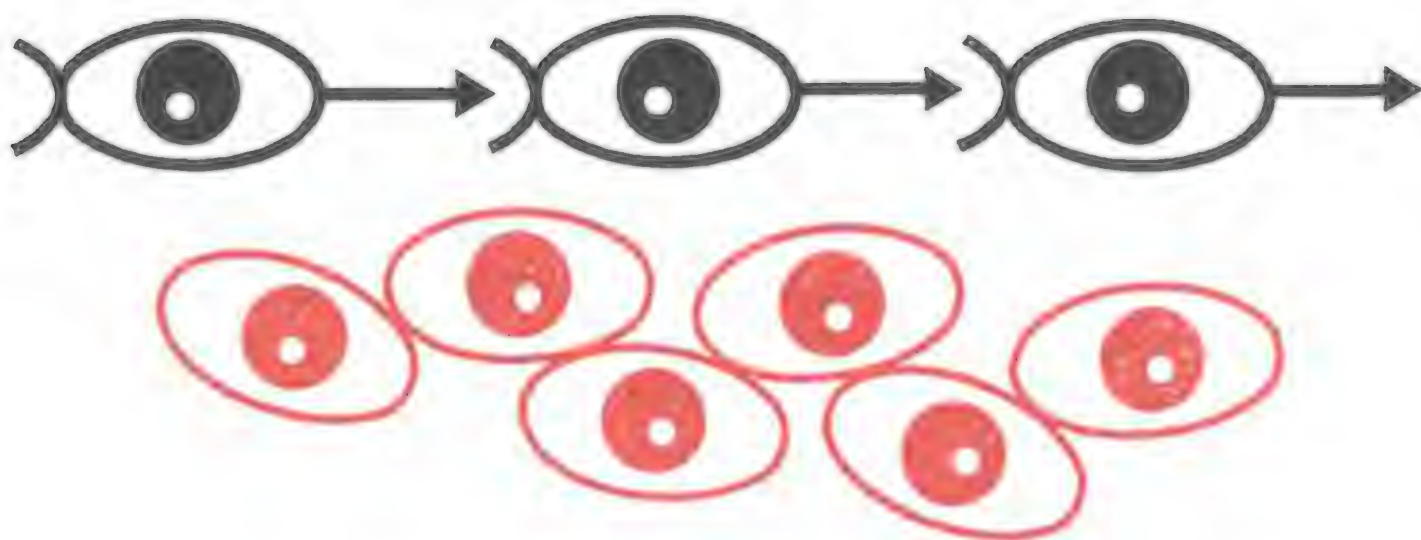
Но овечья шкура не истребила волчью натуру: связывание одновалентного Кон А оказалось обратимым. Избыток метилглюкозы, которая спорит с клетками за связь с Кон А и тем самым срывает его с клеточной мембраны, ведет к тому, что опухолевые клетки обнажают свое «подлинное лицо»: они начинают расти в клеточной культуре, не обращая внимания на клеточные контакты, точно так же, как они себя вели до встречи с Кон А.

Однако история с Кон А на этом не заканчивается. Если верно, что связующие центры Кон А важны для проявления клетками способности к росту, то обработанные трипсином и связывающие Кон А клетки ЗТЗ, на которые мы только что ссылались, также должны стать «опухолевыми» клетками. И действительно, путем трипсинизации оказалось возможным вывести клетки из-под контроля контактного торможения и индуцировать в них новый цикл синтеза ДНК с последующим клеточным делением. Но трипсин способен лишать клетку нормальных свойств к росту лишь на короткое время. Такие клетки могут пройти одно деление,

после чего деления прекращаются. Они также теряют способность вновь связывать Кон А, ибо лишь временно были опухолевыми клетками.

Эту главу мы можем закончить вопросом: какова природа связующих центров? Ответ, по крайней мере с химической точки зрения, прост: это, по-видимому, гликопротеины с глюкозой в качестве специфически связывающего компонента (Бургер обнаружил, что α -метилглюкоза «спорит» с клетками за Кон А, тем самым освобождая их от торможения этим веществом).

Какие функции несут эти мембранные структуры? Вернемся еще раз к гипотезе, согласно которой нормальные клетки в культуре ткани могут не только продуцировать



факторы роста, но и отвечать на них. Можно было бы заключить, что клетки, трансформированные вирусом (SV 40-3Т3), не способны обмениваться сигналами и, следовательно, растут без контактного торможения. Однако такое предположение неверно, поскольку, если судить по поведению смешанных культур нормальных и опухолевых клеток (см. стр 132), опухолевые клетки могут превосходно воспринимать регуляторные сигналы от нормальных клеток. Они лишь разучились их посылать.



Конканавалин А позволяет им вновь посылать сигналы. Это явление с трудом находит объяснение, если предположить простое покрытие обнаженных связующих центров. Неисключено, что вся гипотеза «отправитель — получатель»

ложная. Но возможно, что Кон А просто покрывает все отрицательно заряженные участки поверхности; это затрудняет клеточные контакты и побуждает опухолевые клетки расти без контактного торможения.

Заключение

Кроме ядра и лизосом, клеточные мембраны, по-видимому, относятся к числу наиболее важных органелл в канцерогенезе. Совокупность всех перечисленных органелл позволяет создать законченную теорию развития опухолевой клетки:

1. Лизосомные ферменты, особенно лизосомная ДНКаза, изменяют ДНК в ядре.

2. В свою очередь измененная ДНК продуцирует «более кислые» строительные блоки для мембран, чем нормальная ДНК. Отрицательно заряженная мембрана изменяет «социальные» свойства клетки.

Вплоть до настоящего момента мы не касались самой важной клеточной органеллы — митохондрии. А ведь именно митохондрия, как утверждает Варбург в своей теории, в состоянии направить развитие клетки по опухолевому пути. Вот почему теперь нам предстоит сосредоточить внимание на этой органелле.

Митохондрии и теория рака Варбурга

Митохондрии, силовые установки клетки, — краеугольный камень старейшей биохимической теории рака, которая усматривает предпосылку для злокачественного роста в повреждении клеточного дыхания и в «аэробном гликолизе». В 1923 г. Отто Варбург открыл процесс гликолиза в опухолях; в 1955 г. он сформулировал свою теорию на основании ряда наблюдений и гипотез.

Производство энергии и дыхательная цепь

Так называемая дыхательная цепь локализуется в митохондриях. Она состоит из нескольких ферментов, последовательно «сжигающих» с кислородом водород из питательных веществ. Для наших целей достаточно представить эту дыхательную цепь в виде «черного ящика», в который вводятся O_2 и H_2 (в форме восстановленного кофермента НАДН) и который выдает в значительных количествах энергию (АТФ) и воду.

Гликолиз

При распаде глюкозы до пировиноградной кислоты АТФ вырабатывается непосредственно, то есть без участия дыхательной цепи. (Для ознакомления с деталями рекомендуем читателю заглянуть в учебник биохимии.) Производство АТФ в этой системе по сравнению с высоким выходом АТФ в результате окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи незначительно, зато выработка этого незначительного количества АТФ обеспечивается даже в отсутствие кислорода.

Но и здесь есть свои проблемы: распад каждой молекулы глюкозы до пировиноградной кислоты требует восстановления двух молекул НАД до НАДН. Однако запас НАД

в клетке ограничен, поэтому распад глюкозы в конечном итоге прекращается. Катаболизм глюкозы может продолжаться лишь при соответствующем окислении НАДН.

Такая регенерация НАД возможна в результате лактатдегидрогеназной реакции — ферментативного превращения пировиноградной кислоты в молочную:



На каждую образующуюся молекулу молочной кислоты приходится одна молекула НАД, что обеспечивает превращение еще одной половины молекулы глюкозы. Путь от глюкозы до молочной кислоты называют лактатным гликолизом; таким образом, в энергию без участия кислорода может быть превращено столько глюкозы, сколько потребуется. Правда, гликолиз — плохая замена дыхания. При гликолизе вырабатывается лишь 52 ккал/моль глюкозы (2 моля АТФ), а при дыхании 686 ккал/моль (38 молей АТФ).

Манометрический метод измерения интенсивности дыхания и гликолиза по Варбургу

Как известно, в процессе дыхания поглощается кислород. Если сосуд, содержащий клетки (суспензии клеток, срезы ткани), соединить с манометром, то можно непосредственно получить данные относительно поглощения кислорода. Варбург ввел понятие дыхательного коэффициента Q_{O_2} — количества кислорода в кубических миллиметрах, поглощенного 1 мг ткани (сухой вес) при насыщении кислородом при 38°С в течение 1 ч.

Манометрический метод Варбург применил и для измерения концентрации образующейся молочной кислоты. При образовании 1 моля молочной кислоты высвобождается 1 моль CO_2 из бикарбонатного буфера, и выделение углекислоты измеряется манометрически. Здесь также был предложен коэффициент ($Q_M^{N_2}$ или $Q_M^{O_2}$), определяющий количество углекислоты в кубических миллиметрах, высвобождающееся в 1 мг ткани в течение 1 ч. Индексы N_2 или O_2 указывают на условия, в которых проводились измерения, — в атмосфере азота (анаэробно) или кислорода (аэробно).

Гликолиз в раковых клетках

Высокий уровень гликолиза в асцитных клетках впервые был отмечен в 1952 г. в лаборатории Варбурга (Берлин — Далем); впоследствии этому было найдено неоднократное подтверждение в других исследованиях. Но еще в 1923 г. Варбург, анализируя поглощение кислорода и образование молочной кислоты в срезах солидных опухолей, обнаружил, что они поглощают меньше кислорода и образуют больше молочной кислоты, чем срезы нормальной ткани.

По-видимому, процесс дыхания в раковых клетках нарушен. Означает ли это, что повреждения в дыхательной цепи ведут к развитию опухоли?

Канцерогены нарушают дыхание

Нарушения дыхания, ведущие к развитию опухоли, обусловлены двумя жесткими критериями:

1. Повреждения должны быть необратимыми, поскольку, однажды наступив, они передаются всем последующим поколениям клеток.

2. Вместе с тем эти повреждения не должны быть смертельными для клетки. Не следует ожидать, что все дыхательные яды канцерогенны.

Формулу дыхательный яд = канцероген следует читать справа налево: все канцерогены нарушают процесс дыхания. *Нитрозамины* вписываются в эту формулу, да и классические *канцерогенные углеводороды* не являются исключением. Дыхание нарушается также в результате *рентгеновского облучения*: «Очевидно, что канцерогенез, вызванный рентгеновским облучением, есть не что иное, как нарушение дыхания в связи с устранением (гибелью) дышащих митохондрий» (эта цитата, как и все последующие в этой главе, взята из работ Варбурга).

Однако простые повреждения дыхания еще не вызывают рак: «Если нарушения дыхания должны вызывать рак, то такие нарушения, как уже упоминавшиеся, должны быть необратимыми». Варбург предложил изящное решение этой проблемы: необходимо лишь допустить, что митохондрии являются независимыми микроорганизмами, производство которых не зависит от ядра. Другими словами, митохондрия может возникать лишь из другой митохондрии. Это означает, что клетка, из которой «выбиты»

митохондрии, не может образовывать новых митохондрий. Разумеется, сказанное распространяется и на дочерние клетки.

Omne Granum e Grano

Предположения о самостоятельном размножении «дыхательных гранул» высказывались давно. На основе чисто морфологических соображений (митохондрии — это изолированные частицы со сложной структурой) делался вывод о том, что митохондрии и в самом деле можно рассматривать как симбионты.

Убедительное подтверждение этой мысли найдено совсем недавно. Как оказалось, в митохондриях имеется собственная ДНК, и поэтому они могут самостоятельно осуществлять процесс транскрипции (синтез РНК).

Путь к опухолевой клетке:

отбор клеток, способных к гликолизу

«Даже если дыхание в соматических клетках подверглось необратимым нарушениям, раковая клетка еще не возникла, поскольку для ее образования требуется не только необратимое повреждение дыхания, но и усиление гликолиза, причем такое, которое энергетически компенсировало бы потери в дыхании. Каким же образом осуществляется такое усиление гликолиза?»

Если скормливать крысам ДАБ или диэтилнитрозамин, то после длительного скрытого периода наблюдается усиление гликолиза в печени до уровня, характерного для опухолей.

Движущей силой этого процесса является дефицит энергии, возникающий в результате нарушения дыхания и вынуждающий клетку каким-то образом восполнять потери в энергии, вызванные нарушением дыхания. И клетки (как популяция) выполняют это требование путем отбора, в ходе которого на вооружение берется гликолиз нормальных соматических клеток. Клетки, в которых гликолиз недостаточно интенсивен, погибают, а клетки с более интенсивным гликолизом выживают. Такой отбор продолжается до тех пор, пока нарушения дыхания не будут полностью компенсированы энергетическим усилением гликолиза. Лишь тогда можно считать, что из нормальной клетки

возникла клетка раковая. Кроме того, приняв эту гипотезу, мы начинаем понимать, почему усиление гликолиза происходит медленно и почему оно возможно лишь после многократных делений клетки.

«Неполноценность» энергии гликолиза

«Почему — и это наш последний вопрос — соматические клетки становятся дедифференцированными, как только их дыхательная энергия заменяется энергией гликолиза»? В результате гликолиза, так же как и в результате дыхания, вырабатывается АТФ, а АТФ всегда остается АТФ.

Варбург поддерживает свой тезис о неполноценности энергии гликолиза двумя аргументами — историческим и морфологическим.

Из геологии мы знаем, что еще до появления кислорода в атмосфере на Земле существовали какие-то формы жизни. Это были низкодифференцированные одноклеточные организмы, жившие без кислорода, но способные к гликолизу. И лишь когда в атмосфере появился свободный кислород — а произошло это около 800 миллионов лет назад, — почти внезапно началось бурное развитие жизни и образовались царства растений и животных. Следовательно, *evolution creatrice* — результат деятельности кислорода, точнее, кислородного дыхания. Обратный путь дедифференцировки высокоразвитых соматических клеток сегодня наиболее ярко проявляется в процессе возникновения рака.

При канцерогенезе клетка как бы возвращается к примитивным формам роста.

В дополнение к исторической аналогии Варбург поясняет «неполноценность» энергии гликолиза следующими рассуждениями: дыхательная цепь локализуется в митохондриях, а гликолитические ферменты — в цитоплазме. Таким образом, АТФ, возникающая в процессе дыхания, синтезируется в органелле и, следовательно, согласно Варбургу, обладает большей «структурностью», чем АТФ, синтезированная в процессе гликолиза. «Это все равно, что облучить две фотопластинки одинаковым количеством света, но в одном случае — света рассеянного, а в другом — упорядоченного. На одной пластинке образуется диффузное почернение, на другой — рисунок». Как говорят философы, порядок может возникнуть лишь из порядка.

Недостаток кислорода в опухолевой ткани

В условиях недостатка кислорода раковые клетки имеют существенное преимущество перед нормальными клетками: им помогает выжить гликолиз, в то время как нормальные клетки без кислорода погибнут.

Правда, совсем без кислорода опухолевые клетки расти не могут, но в них парциальное давление кислорода обычно ниже уровня, необходимого для нормальных клеток. Низкий уровень давления кислорода в опухоли можно продемонстрировать на примере простого эксперимента. Если мышам инъецировать возбудители столбняка, мыши не заболеют. Анаэробные возбудители столбняка способны размножаться лишь в условиях кислородного голодания, а в тканях мыши давление кислорода для этого недостаточно низко. Однако, если этих же возбудителей инъецировать мышам, у которых имеются опухоли, животные заболеют, поскольку в опухоли микробы находят среду с низким содержанием кислорода. Этот эксперимент доказывает не только то, что опухолевые клетки *могут* расти анаэробно, но и то, что в опухолях они *действительно* растут анаэробно (Мальмгрен).

Эффект «микроб — опухоль» может быть использован и в лечебных целях (Мёзе): если опухоль хозяина обработать подходящими анаэробами, то размножающиеся бактерии осядут в опухоли и избирательно разрушат опухолевую ткань. Опухоли начнут размягчаться и в конце концов распадутся.

Две фазы развития опухоли

Варбург суммировал свою респираторную теорию рака в следующих, не допускающих возражений фразах:

Процесс возникновения раковых клеток из нормальных соматических клеток состоит из двух фаз. Подобно тому как заболевание чумой обусловлено совокупностью, казалось бы, не связанных друг с другом факторов (жарой, наличием насекомых и крыс), но вызывается одной лишь причиной — бациллой чумы, возникновение рака связано с целым рядом факторов. Этот процесс вызывают каменноугольная смола и облучение, мышьяк и низкое парциальное давление кислорода в клетках, уретан и песок. Но непосредственной причиной, к которой ведут все прочие перечисленные факторы, является необратимое нарушение дыхания клеток.

За этим следует вторая фаза развития рака — длительная борьба поврежденной клетки за существование, борьба, в которой часть

клеток погибает из-за нехватки энергии, в то время как другой части удается восполнить потери энергии клеточного дыхания за счет энергии гликолиза. Из-за морфологической неполноценности энергии гликолиза высокоразвитые соматические клетки превращаются в дедифференцированные, беспорядочно растущие клетки — клетки раковой опухоли.

Профилактика рака путем интенсификации дыхания

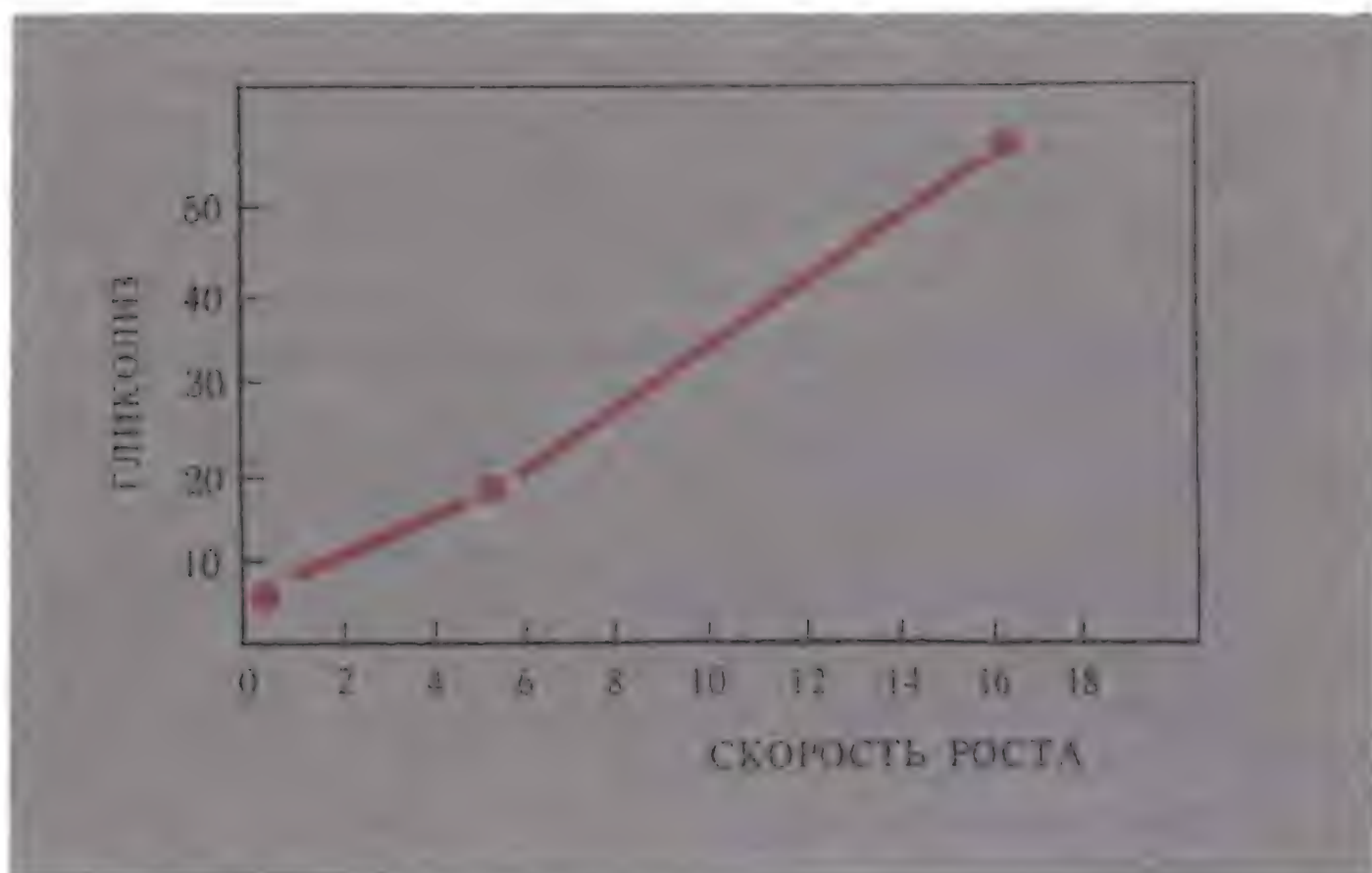
Из теории Варбурга непосредственно следует, что интенсификация клеточного дыхания должна затруднять развитие опухоли. Имеется удивительный тому пример.

В Скандинавии обнаружили форму рака гортани и пищевода, которая на своих ранних стадиях (так называемый синдром Пламмера — Винсона) может легко диагностироваться. Если таким больным вводить в пищу коферменты дыхательных ферментов (никотинамид, флавин и соли железа), то эта предраковая стадия может быть полностью излечена. Следовательно, эту форму рака можно предотвратить, и в настоящее время разрабатываются меры к полному устранению этого заболевания путем добавления в пищу нужных веществ. В данном случае, по-видимому, профилактика не представит проблем, поскольку передозировка упомянутых коферментов не ведет к осложнениям.

Помимо такой профилактики рака по Варбургу, начинают разрабатывать и метод лечения рака по Варбургу (подробнее см. стр. 258 и след.) с использованием гликолиза.

Не все опухоли проявляют эффект Варбурга

Если гликолиз является истинной причиной возникновения раковой клетки и ее основным признаком, то, казалось бы, все опухоли должны обладать этим свойством. Однако в 1958 г. были открыты первые опухоли без аэробного гликолиза (Айзенберг, Поттер). Это были гепатомы с минимальным отклонением, трансплантируемые опухоли печени, которые лишь незначительно отличаются от здоровой печени. Как оказалось, между скоростью роста такой гепатомы и интенсивностью гликолиза существует зависимость: быстро растущие опухоли вырабатывали молочную кислоту в ощутимых количествах, в то время как медленно растущие опухоли проявляли лишь слабую склонность к гликолизу или вовсе были к нему не способны.



Ф и г. 29.

Позднее Бёрк произвел измерения на таких опухолях с минимальным отклонением от нормы. Его результаты представлены на графике фиг. 29. В начале кривой (гликолиз печени равен 1) указаны медленно растущие гепатомы с очень слабым гликолизом. Как показывает кривая, интенсивность гликолиза очень низка, но нельзя утверждать, что он вовсе отсутствует.

«Нулевая точка» является объектом споров: у различных авторов $Q_M^{N_2}$ для печени колеблется от 1,0 до 0,6. Таким образом, величина гликолиза 1,2 для медленно растущей гепатомы Морриса, по-видимому, лишь чуть выше нормы.

Но противоречия на этом не кончаются: если клетки поддерживать в условиях кислородного голодания 48—72 ч, то интенсивность дыхания в них резко снижается. Если таким клеткам позволить расти затем в обычных условиях, интенсивность дыхания в них восстанавливается. Поскольку низкое давление кислорода характеризует большинство опухолей, опухолевые клетки дышат не столь интенсивно; они, собственно, и не страдают от недостатка кислорода.

И действительно, во многих опухолевых клетках наблюдается «истинное» нарушение дыхания; такие клетки содержат меньше митохондрий и характеризуются пони-

женной интенсивностью дыхания и усиленным гликолизом даже после продолжительного пребывания на воздухе. Однако до сих пор не ясно, находятся ли дыхание и гликолиз в обратной зависимости друг от друга.

Для решения этого вопроса Пауль использовал систему клеток, трансформированных вирусом полиомы. Оказалось, что трансформированные клетки действительно вырабатывают больше молочной кислоты, хотя одновременно поглощают столько же кислорода, сколько и нетрансформированные клетки. Следовательно, они не представляют собой исключения из правила гликолиза в опухолевых клетках, но вместе с тем показывают, что нарушение дыхания необязательно для всех опухолевых клеток.

Что же касается клеток, трансформированных вирусом полиомы, то они напоминают эмбриональные клетки: в них также не нарушено дыхание и в то же время наблюдается интенсивный гликолиз. Однако в регенерирующей печени гликолиз отсутствует. Это значит, что рост сам по себе еще не означает автоматического усиления гликолиза. Почему опухолевые клетки, обладающие интенсивным гликолизом, проявляют автономный рост, а рост эмбриональных клеток поддается регуляции, остается пока невыясненным.

Интенсивность гликолиза коррелирует со скоростью роста опухоли

На серии гепатом Морриса удалось показать, что в медленно растущих опухолях гликолиз протекает слабо, между тем как быстро растущие опухоли обладают значительно более интенсивным гликолизом. Соответственно дыхание в них нарушено, а число митохондрий снижено.

Бёрк получил аналогичные данные на опухолевых клетках *in vitro*. Он сравнивал две линии опухолевых клеток, которые произошли из одной и той же клетки, но в которых после многократных пассажей была достигнута разная степень злокачественности. В менее злокачественной линии гликолиз был минимальным, в то время как более злокачественная линия обнаружила высокую интенсивность гликолиза.

В недавних исследованиях дыхательных и гликолитических ферментов нормальной печени и опухолей Вайнхауз обнаружил, что высокодифференцированные гепатомы с минимальным отклонением имеют такой же набор изофер-

ментов, как и нормальные клетки взрослой печени, и тем не менее проявляют высокую злокачественность и убивают хозяина.

Однако даже в тех случаях, когда интенсивность гликолиза и скорость роста коррелируют друг с другом, это еще не значит, что гликолиз — единственный и, возможно, решающий фактор, определяющий скорость патологического роста. Почему бы гликолизу не быть следствием неопластической трансформации, а не ее причиной? На вопрос о том, являются ли нарушения дыхания и гликолиза действительно первичными факторами в канцерогенезе, Варбург отвечал, что он не представляет себе что-либо более первичное, чем дыхание и гликолиз. Между тем эксперименты Вайнхауза почти доказывают что нарушения дыхания — следствие, а не причина образования опухоли.

Заключение

Нарушение дыхания и усиление гликолиза во многих опухолевых клетках составляют суть теории возникновения рака по Варбургу. Рак, по-видимому, не что иное, как возвращение к примитивным способам существования «истинных» одноклеточных организмов.

Даже если не все опухоли способны к гликолизу, все же темп роста опухоли находится в прямом соотношении с интенсивностью гликолиза.

Иммунология опухолей: основы специфической для хозяина защиты от опухолей

Успешная пересадка органов сопряжена с целым рядом ухищрений: необходимо не только провести удачную операцию, но и «перехитрить» защиту организма хозяина. Проблема эта отнюдь не нова. Еще в XVII в. фламандский врач ван Хельмонт сообщал:

Некий житель Брюсселя, потеряв нос в сражении, обратился к знаменитому хирургу Таглиакоццусу, проживающему в Болонье, с просьбой пришить ему новый нос. Поскольку он боялся, чтобы ему делали разрез на руке, он нанял носильщика, из руки которого — за определенное вознаграждение — и был выкроен новый нос. Однако через тринадцать месяцев, когда больной уже возвратился домой, пересаженный нос внезапно начал холодеть, загнивать, а через несколько дней и вовсе отвалился. Друзья больного, пытаясь выяснить причину неудачи, обнаружили, что как раз в то время, когда пересаженный нос начал холодеть и гнить, носильщик умер. Еще и по сей день живы почтенные граждане Брюсселя, могущие засвидетельствовать эту историю.

Очевидно, люди верили в биологическую предопределенность, в существование внутренних часов, безжалостно отстукивающих время в соответствии с предначертаниями свыше. Но если отбросить эту кальвинистическую интерпретацию, то ван Хельмонт вполне точно описывает, что произошло после пересадки органа несовместимому хозяину: сначала нос «прижился», но затем начал испытывать недостаток кровоснабжения — стал холодеть, некротизировался и в конце концов был отторгнут. Организм признал нос чужеродным телом и в соответствии с этим отверг его.

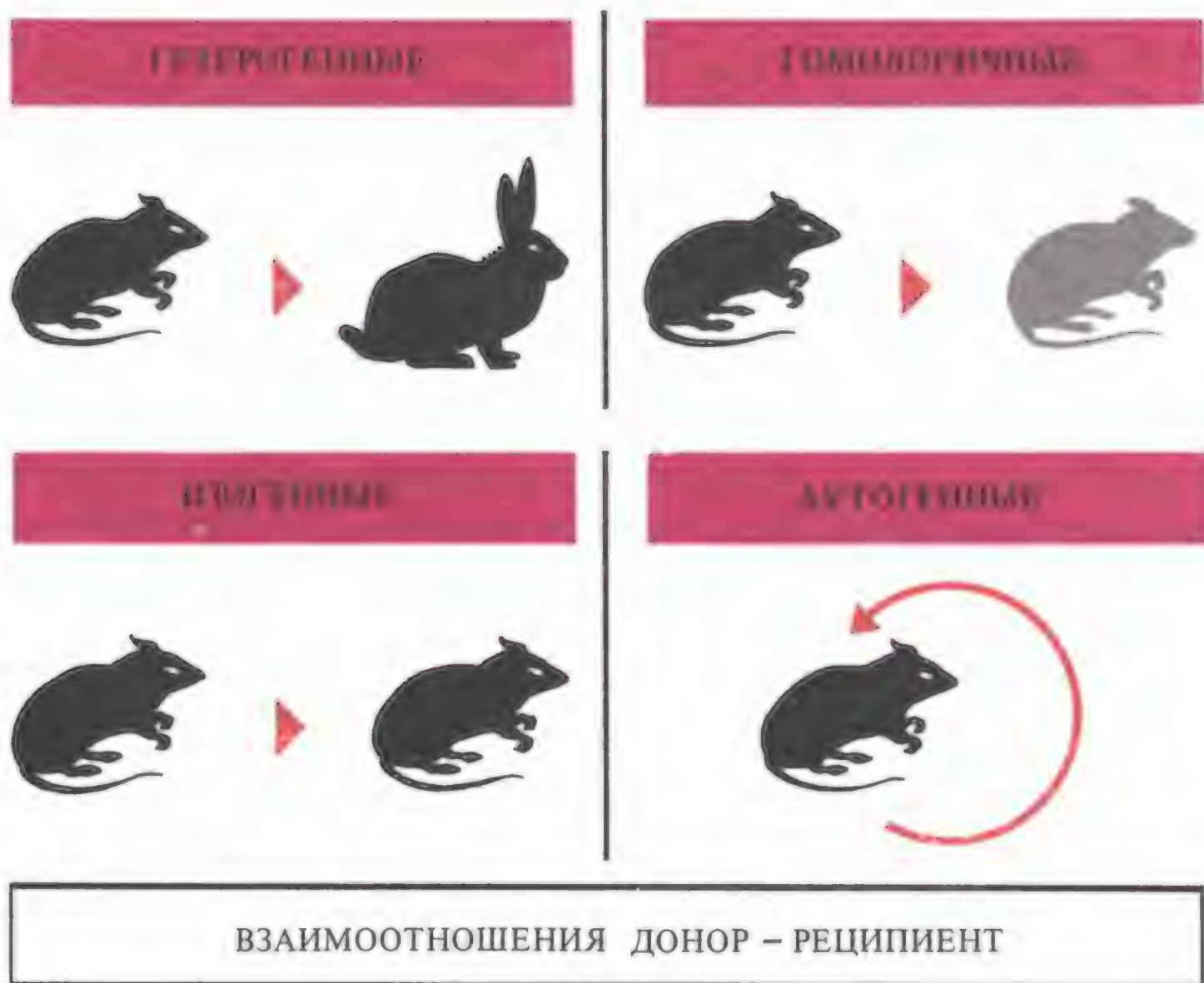
Это явление сходно с процессом, наступающим после бактериальной инфекции: и в этом случае чужеродные структуры познаются и обезвреживаются. Таким образом, организм может различать «свое» и «не свое» (чужое). Механизмы, ведущие к подобной ксенофобии, очень сложны: в них вовлечены плазматические клетки, лимфоциты,

селезенка и лимфатические узлы, иными словами, вся ретикулоэндотелиальная система. Имеется также целый набор тактических приемов: синтез нейтрализующих, агглютинирующих и преципитирующих антител, уничтожение при прямом контакте между клетками, фагоцитоз и т.д. Большинство таких иммунологических реакций высокоспецифично. Антиген подходит к «своему» антителу, как ключ подходит к замку. При этом несущественно, растворимы ли антиген и антитело или же они связаны с клеткой. Для удобства изложения мы отказываемся от подробного обзора иммунной системы и знакомства со всеми ее частными функциями, поскольку для нас главное — осмыслить результаты основных экспериментов в современной иммунологии опухолей. В настоящее время исследователи склоняются к мысли, что отторжение трансплантатов и борьба с бактериальными инфекциями — лишь «побочные занятия» иммунной системы. Разумеется, пересадки — достаточно искусственные ситуации, и нам важно помнить, что в реакции отторжения принимают участие механизмы, первоначально «задуманные» для совершенно иных целей. «Весьма возможно, — высказался однажды Барнет, — что иммунологическое самоузнавание есть производная процесса, который позволяет поддерживать морфологическое и функциональное единство в больших и долгоживущих многоклеточных организмах».

Это значит, что истинное предназначение иммунной системы, по-видимому, заключается в контроле за внутренним равновесием всех клеток в целостном организме. Особой, но крайне важной функцией в рамках этого предназначения является уничтожение опухолевых клеток. Именно такая специфическая для хозяина «мусоровыводящая система» находится в центре внимания возникшей в недавнее время иммунологии опухолей.

Взаимоотношения донора и реципиента при трансплантации

Без дополнительных ухищрений трансплантации удаются лишь в том случае, если донор и реципиент являются монозиготными (однойяйцевыми) близнецами. К счастью, такую ситуацию можно тщательно изучить в опытах на животных при использовании высокоинбредных штаммов. Высокоинбредными называются штаммы, в течение дли-



Ф и г. 30.

тельных периодов поддерживаемые исключительно скрещиванием брата с сестрой; через несколько лет все животные становятся генетически идентичными. Они имеют те же хромосомы; другими словами, они не просто похожи друг на друга, но и тела их состоят из одинаковых белковых структур. Этот пример проиллюстрирован на фиг. 30 и характеризуется терминами «изогенный» или «сингенный».

Во всех других случаях (см. также фиг. 30) обмен трансплантатами между животными различных штаммов (гомологичных), между животными не вполне инбредных штаммов, а также между животными различных видов (гетерогенных) невозможен. Отторжение трансплантатов между генетически различными животными (гомологичные трансплантации) было подвергнуто тщательному изучению. Исследовались и гены, ответственные за несовместимость тканей. В их функцию входит синтез веществ, которые отличают одно животное от другого, за исключением случая идентичных близнецов. Эти вещества обладают антигенной активностью — они вызывают реакцию оттор-

жения иммунной системы. Их называют антигенами тканевой (не)совместимости.

Каким же образом трансплантаты от доноров с одинаковой наследственностью приживаются, тогда как другие отторгаются? Этот вопрос можно сформулировать иначе: почему иммунная система организма не реагирует против своих же структур и веществ? Что удерживает организм от саморазрушения? Прежде иммунологи говорили о «horror autotoxicus»¹, но лишь современные теории, связанные главным образом с именами Барнета и Ледерберга, дают ясный ответ. Согласно этим предположениям («теория селекции клонов»), очень молодое животное обладает большим числом иммунологически компетентных клеток, то есть клеток, способных синтезировать специфические антитела против определенных веществ и структур. Клетки, которые могут создавать антитела против веществ в собственном организме, сначала реагируют с этими веществами, затем каким-то образом сенсibiliзируются и «изымаются из обращения». Те иммунные клетки, которые могут реагировать со структурами, принадлежащими данному организму, удаляются, но сохраняются другие клетки, не нашедшие себе «партнера». Между ними впоследствии всегда найдутся такие, которые будут в состоянии вступать в реакцию с веществами, чужеродными для организма. Так молодые животные становятся «толерантными» к антигенам, специфичным для организма, а также для донора с той же наследственностью. Таким образом, нерушимое правило, согласно которому пересадка возможна лишь между животными с одинаковой наследственностью, находит четкое объяснение.

Для этого правила имеется одно постоянно упоминаемое исключение: спонтанно и экспериментально индуцированные опухоли можно пересадить и от животных с различной наследственностью. Разумеется, это удастся лишь в редких случаях, однако с течением времени было найдено довольно много трансплантируемых опухолей, и сейчас в распоряжении исследователей имеется широкий выбор.

¹Боязнь аутоксикации. — *Прим. перев.*

Трансплантируемые опухоли

Трансплантация опухолей была с успехом произведена еще в конце минувшего столетия. Удалось пересадить опухоли от собаки щенкам (Новинский, 1877). Моро произвел пересадки рака молочной железы мыши (1889). Пересадки осуществлялись несколькими пассажами. В каждом случае гистоморфологическое исследование показывало, что вновь выросшие опухоли были идентичными перевиваемому материалу. Таким образом, успех пересадки подтверждался документально.

Эксперименты показали — и это было многократно подтверждено последующими исследователями, — что рак можно перевивать живыми интактными клетками. При трансплантации опухолевые клетки прививаются организму точно таким же путем, как садовник прививает части одного растения другому. Длительное время считалось, что интактные клетки — необходимая предпосылка для пересадки. От этой догмы начали избавляться лишь в эру вирусных опухолей. Сегодня известно немало опухолей, которые могут быть перевиты с помощью бесклеточных экстрактов.

Но пионерам-трансплантологам принадлежит не только теоретический вклад в науку о пересадках. Они открыли также возможность получения такого количества опухолей, которое необходимо для работы. Исследователям более не надо было ожидать появления спонтанных опухолей.

Поначалу ранние труды прошли практически не замеченными. Вскоре после 1900 г. Лёб и Иенсен вновь вернулись к пересадкам, а уже через несколько лет начались повсеместные исследования с использованием перевиваемых опухолей. Для этого требовались лишь небольшие кусочки опухоли или опухолевого экстракта, разведенного физиологическим раствором, и шприц: инъекцию можно было производить под кожу, в мышцу или даже в полость брюшины. Занималась заря золотого века экспериментальной онкологии, и многие ученые были убеждены, что тайну рака вскоре удастся разгадать. «Рак в принципе является излечимой болезнью», — писал Гэйлорд в 1906 г. в своем докладе Комиссии по здравоохранению штата Нью-Йорк. При этом он исходил из того, что мыши, которые спонтанно выздоравливали от перевиваемой опухоли Иенсена, оставались устойчивыми при вторичной пересадке этой же

опухоли. Появилась надежда, что достаточно лишь изучить «естественные» защитные механизмы и будет разработана действенная противоопухолевая терапия.

Ранние надежды на профилактическую инъекцию против опухолей

Мыши Гэйлорда спонтанно выздоравливали и таким образом становились устойчивыми по отношению к данной опухоли. Подобную устойчивость можно было вызвать и искусственным путем. Требовалось лишь предварительно иммунизировать животных — либо путем инъекции «субпороговым» числом опухолевых клеток или хирургического удаления уже имеющейся опухоли, либо путем инъекции клеток, убитых облучением. Эрлиху удалось иммунизировать мышей против всех доступных ему типов рака молочной железы. Однако эти «иммунные» животные могли умереть от собственного рака молочной железы. Ученые начали понимать, что трансплантируемые опухоли трудно сравнивать со спонтанными опухолями. Они значительно реже метастазируют и легче поддаются лучевой и другим видам терапии. Перевиваемые опухоли остаются «чужеродными телами», навязанными хозяину. Поэтому любая противоопухолевая терапия только усиливает уже имеющиеся в организме защитные механизмы. Это обстоятельство вынудило Медавара с огорчением отметить, что «при изучении трансплантируемых опухолей можно многое узнать о трансплантации, но мало об опухолях».

Коренные изменения начались лишь после того, как появилась возможность работать с чистыми инбредными штаммами. У животных чистой инбредной линии (с общей наследственностью) трансплантируемые опухоли нельзя рассматривать как чужеродные тела. Изологически трансплантируемые опухоли в четыре-пять раз труднее убить рентгеновским облучением, чем гомологичные трансплантаты. В этом отношении они практически не отличаются от первичных опухолей, в связи с чем было высказано мнение, что опухоли у генетически идентичных животных — наилучшая модель спонтанных опухолей. Однако все попытки защитить генетически идентичных животных от повторных трансплантаций путем предварительной иммунизации поначалу терпели неудачу. Поэтому кое-кто из ученых предположил, что из-за идентичности генетической конституции

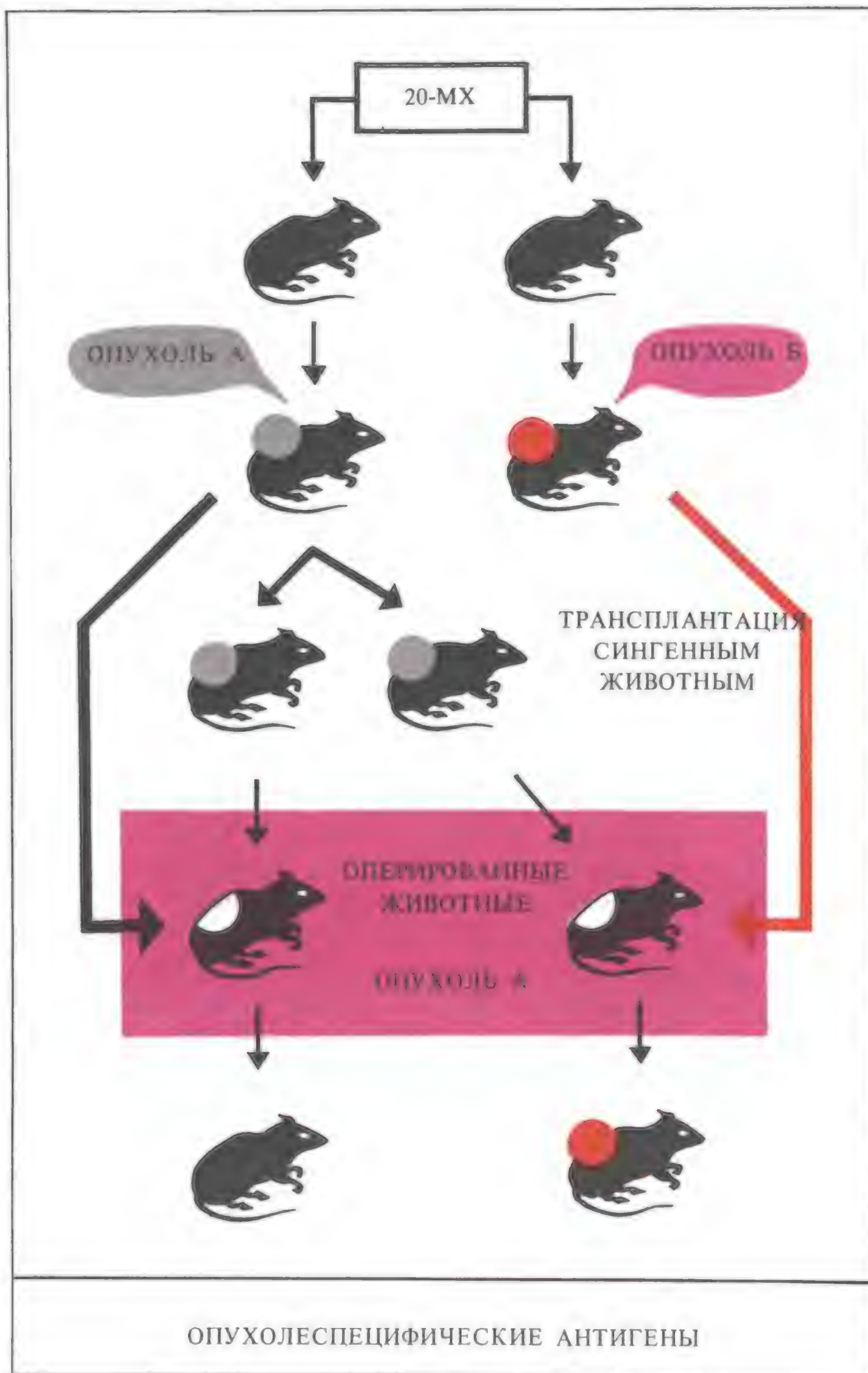
подобные меры вообще обречены на провал. Почему опухоли у однояйцевых (идентичных) близнецов должны вести себя иначе, чем кожные трансплантаты? Ведь кожные трансплантаты не отторгаются.

Опухолеспецифические антигены у генетически идентичных животных

В 1953 г. Фоули удалось показать, что защитные механизмы против трансплантируемых опухолей мобилизуются и у генетически идентичных реципиентов. В 1957 г. его эксперименты были подтверждены и расширены Преном и Мейном. Оба ученых сначала индуцировали фибросаркому у высокоинбредных мышей путем имплантации крупинки метилхолантрена. После того как образовалась первичная опухоль, они пересаживали ее маленький кусочек группе других животных этого же штамма. Кусочки начинали расти и развивались в дочерние опухоли. Затем опухоли удаляли хирургическим путем, а леченым животным вторично пересаживали аналогичную опухоль. На сей раз опухоли не прививались. По-видимому, это объяснялось тем, что за время роста первого трансплантата вступали в действие защитные механизмы, которые предотвращали приживание второго трансплантата (схема рассматриваемого опыта приведена на фиг. 31 слева). Таким образом, оперированные животные становились «иммунными», хотя опухоль была взята от генетически идентичного животного и, казалось бы, не должна была вызывать обычных защитных реакций. Сказанное вынуждает нас сделать вывод, что опухоль обладает одним (или более) новым антигеном, чуждым во всем другом генетически идентичным животным и тем самым вызывающим реакцию отторжения. Итак, опухоль даже от идентичного близнеца отличается от простого кожного трансплантата.

Пересадка с последующей операцией — не единственный метод иммунизации животных. Во многих случаях предварительная иммунизация проводилась посредством рентгеновского облучения, в высоких дозах убивающего опухолевые клетки. Суспензии мертвых опухолевых клеток также вызывали иммунные реакции, которые препятствовали росту живых клеток из этих же опухолей.

Появление опухолеспецифических антигенов не ограничивается саркомами, индуцированными метилхолантrenom.



Ф и г. 31

Точно такие же результаты были получены на саркомах, вызванных другими канцерогенными углеводородами. В гепатомах, индуцированных азокрасителями, а также в раках молочной железы, индуцированных метилхолантrenom, также были обнаружены опухолеспецифические антигены. Даже саркомы, вызванные имплантацией кусочков целлофана, проявляют антигенные свойства, хотя и очень слабые.

Иммунные животные могут противостоять лишь небольшому числу клеток

Пересадка небольших кусочков опухоли — метод сравнительно грубый. При более тонкой процедуре вводится суспензия опухолевых клеток с точно подсчитанным числом клеток. Как выяснилось, нельзя вводить слишком много клеток, если требуется отторжение второго трансплантата. Даже $4 \cdot 10^5$ клеток на одно животное уже очень много.

Видимо, этим обстоятельством объясняются многочисленные неудачи ранних опытов: животным вводилось слишком много опухолевых клеток, и иммунная система оказывалась попросту перегруженной.

Предварительная защита против опухолевых клеток может быть выработана *in vitro*

В процессе, который в конечном итоге вызывает отторжение трансплантированной опухоли, ведущую роль безусловно играют лимфоциты. Даже без растворимых антител лимфоциты способны специфически инактивировать опухолевые клетки. Прямой контакт между «иммунными» лимфоцитами и опухолевыми клетками-мишенями, очевидно, является необходимым и достаточным.

Эти реакции вполне можно осуществить *in vitro* (фиг. 32). Несколько клеток опухоли, выращиваемой в культуре, инъецируют мышам. Через несколько дней из селезенки иммунизированного животного можно выделить иммунологически активные лимфоциты. Их смешивают с опухолевыми клетками и инкубируют при 37°C ; через 6—9 ч лимфоциты убивают опухолевые клетки. Гибель опухолевых клеток может быть изящно продемонстрирована при помощи следующего метода: опухолевые клетки до проведения реакции с лимфоцитами метят радиоактивным ^{51}Cr посредством простой инкубации в течение короткого вре-



Ф и г. 32.

мени в растворе, содержащем хром. После лизиса лимфоцитами меченых опухолевых клеток радиоактивный хром выходит в раствор. Остается лишь отцентрифугировать не подвергшиеся лизису клетки; по содержанию хрома в жидкости над осадком можно будет судить о том, сколько клеток подверглось лизису.

Если теперь опухолевые клетки, инкубированные с активными лимфоцитами, трансплантировать животным, то трансплантация окажется неудачной: защитные механизмы против этих опухолевых клеток уже выработаны *in vitro*.

У каждой опухоли имеются индивидуальные антигены

Прен и Мейн обнаружили, что различные саркомы, которые они индуцировали метилхолантrenom, обладают различными опухолеспецифическими антигенами. Если серию животных иммунизировать против фибросаркомы А путем предварительной обработки клетками, убитыми облучением или другими методами, то эти животные становятся иммунными лишь по отношению к опухоли А. Другие опухоли (Б, В...) могут у них беспрепятственно

вырастать (см. фиг. 31). И наоборот, опухоль А вырастает, не встречая сопротивления, у животных, которые были иммунизированы против других опухолей. Более того, как оказалось, опухоли, возникающие одновременно у одного и того же животного, могут иметь различные опухолеспецифические антигены.

С течением времени становилось все яснее, что *антигенная индивидуальность отдельных опухолей характерна для химически индуцированных опухолей*. Это, разумеется, не значит, что каждая химически индуцированная опухоль обязана иметь индивидуальные, характерные только для нее антигены. Происходят и перекрестные реакции; иными словами, животные, иммунизированные против опухоли А, могут оказаться иммунными и против опухоли Х. Это должно означать, что антигены, специфические для опухоли А, идентичны или очень сходны с антигенами опухоли Х. Такие перекрестные реакции наблюдаются в действительности, хотя и очень редко.

Опухоли, индуцированные вирусами, также имеют опухолеспецифические антигены

Используя те же методы, что и для демонстрации опухолеспецифических антигенов в химически индуцированных опухолях, можно показать, что опухоли, индуцированные вирусами, также обладают такими антигенами, но с одним важнейшим отличием: все опухоли, вызванные одним и тем же опухолевым вирусом, содержат один и тот же антиген. Одинаковые вирусы всегда индуцируют одинаковые антигены независимо от того, вырастает опухоль у мыши или у хомяка. Даже в клетках человека, выращенных в культуре, после заражения опухолевым вирусом образуется тот же антиген, что и в опухолях, вызванных тем же вирусом у хомяков и мышей. Таким образом, огромное разнообразие антигенов в химически индуцированных опухолях резко отличается от однообразной групповой специфичности вирусных опухолей.

Антигены вирусных опухолей не имеют ничего общего с самими вирусными частицами; они, в частности, не являются компонентами белковой оболочки вируса (по крайней мере, сказанное относится к опухолевым ДНК-вирусам). Если приготовить антитела к самому вирусу, они не будут реагировать с целыми опухолевыми клетками.

Следовательно, антигены вирусных опухолей являются клеточным продуктом, синтезированным в ответ на вирусную инфекцию. Где же заложена программа синтеза этого клеточного продукта — в геноме самой клетки или в геноме вируса? На этот вопрос ответа пока нет. Весьма вероятно, что «виновником» является геном вируса — иначе трудно понять, каким образом те же антигены могут формироваться в самых различных клетках при заражении одинаковым вирусом.

Опухолеспецифические антигены вызывают истинную иммунную реакцию

Мы называли «иммунными» тех животных, у которых не приживаются сингенные опухолевые трансплантаты. Из этого следует, что в защите животного от опухоли принимает участие иммунная система. Имеется целый ряд причин, позволяющих говорить об истинной иммунной защите.

Высокая специфичность реакций сама по себе указывает на вовлечение иммунной системы: опухоль А вызывает иммунный ответ лишь против самой себя, а не против других опухолей. Столь строгая исключительность характерна для иммунных реакций. Человек, только что переболевший скарлатиной, может легко подхватить дифтерию, а выздоровление от гриппа мало чем помогает против полиомиелита. Кроме того, имеются косвенные свидетельства, что отторжение опухолевых трансплантатов у генетически идентичных животных действительно основывается на иммунном ответе.

Отторжение сингенных опухолевых трансплантатов как модель защиты против первичных опухолей

Современную иммунологию опухолей многие представляют как «исследование интересных артефактов». В самом деле, трансплантация опухолей, даже у генетически идентичных животных, — ситуация в высшей мере искусственная. На первый взгляд, спонтанное возникновение или химическое индуцирование опухолей имеет мало общего с трансплантацией.

Но допустим все же, что иммунная система высших организмов важна для поддержания равновесия в отдельных органах и группах клеток. Тогда она действительно может

играть главную роль в защите против первичных опухолей, будучи направлена против всех клеток, которые «не прислушиваются» к тому, как система учит различать «свое» и «не свое». Все клетки, которые не принадлежали организму к тому времени, когда сформировалась иммунная система, будут встречены ею как чужие. Следовательно, все опухолевые клетки, которые появились на протяжении жизни данного организма, должны автоматически рассматриваться как чужеродные.

На вопрос же о том, является ли клетка «чужой» или «своей» для организма, можно получить ответ из опыта с пересадкой. Если трансплантат растет, он «свой», если же отторгается, это означает, что он признан чужим. При подобном рассмотрении перенос опухоли на иммунизированного генетически идентичного двойника нельзя рассматривать как искусственную ситуацию. Двойник-реципиент в такой же мере признает опухоль чужой, как и донор, поскольку оба они имеют одинаковый набор клеток.

В эксперименте следует учитывать два фактора:

1. Перед имплантацией опухоли иммунную реакцию необходимо усилить (предварительная подсадка той же опухоли, которая затем удаляется хирургическим путем; предварительная прививка убитыми опухолевыми клетками и т. п.).

2. Число опухолевых клеток должно быть достаточно низким, чтобы предварительно иммунизированное животное имело возможность с ними справиться.

Первичный опухоленоситель (хозяин), от которого получают трансплантат, по-видимому, не сумел удержать опухоль под контролем. Правда, по имеющимся данным, такое животное воспринимает «свою» опухоль как «чужеродную». В этой связи рассмотрим эксперимент, свидетельствующий о том, что опухолеспецифические антигены являются «новыми» не только для другого животного из того же инбредного штамма, но и для первичного хозяина.

Крыса способна мобилизовать защитные механизмы против своей же собственной первичной опухоли

Мобилизацию защитных сил у первичного хозяина можно продемонстрировать в эксперименте, очень сходном с ранее описанными попытками иммунизации нескольких животных (Александр). Под кожу крысы был импланти-

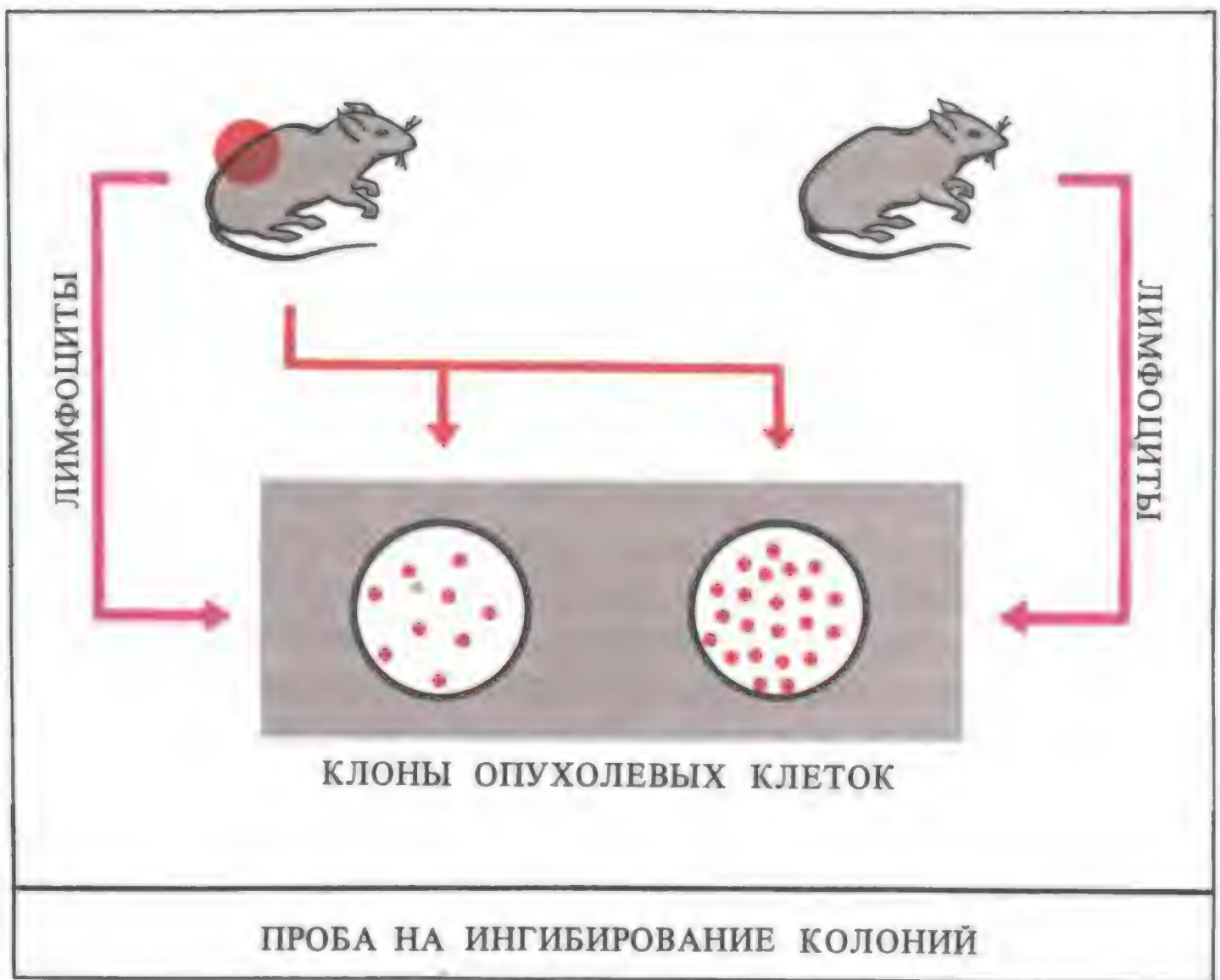
рован 3,4-бензпирен; через восемь месяцев у животного развилась первичная саркома. Ее удалили хирургическим путем и использовали для приготовления клеточной суспензии. В качестве контроля (чтобы установить, что в суспензии находились интактные живые клетки) генетически идентичным животным инъецировали по $2 \cdot 10^6$ клеток.

Опухоли развились у всех животных. Когда же клетки в количестве $2 \cdot 10^6$ были вновь пересажены первичному хозяину, опухоли развились лишь в 10% случаев (иными словами, попытки перенести первичную опухоль на первоначального хозяина должны были повторяться в среднем не менее 10 раз, прежде чем опухоль в конце концов могла прижиться). Следовательно, в организме хозяина должны быть такие защитные механизмы, которые в значительной мере предотвращали бы успех обратной трансплантации своих же опухолей.

Сразу же возникает вопрос: почему все-таки опухоли вырастают, несмотря на такую защиту? Но здесь мы затрагиваем количественный аспект проблемы.

Вот что было показано в несколько видоизмененном эксперименте, где часть первичной опухоли оставили в теле хозяина. Затем $2 \cdot 10^6$ клеток, как и в предыдущем случае, перевили хозяину с частично оставленной опухолью. На сей раз приживание отмечалось в 70% случаев. Защита против пересаженных опухолевых клеток, по-видимому, в значительной мере была «израсходована» на оставленную в организме хозяина часть первичной опухоли. И вновь иммунная защита первичных опухолей осуществляется лишь в ограниченных пределах: когда приходится держать под контролем слишком много клеток, такая защита отказывает. По существу специфическая для хозяина иммунная защита оказывается довольно ограниченной по отношению к опухолевым клеткам: не исключено, что она может и полностью отказаться.

Чтобы понять причины такого отказа, рассмотрим опыт, позволяющий наблюдать, как лимфоциты больного раком убивают опухолевые клетки (Хелльстрём). Из опухоли выделяют опухолевые клетки и высевают их в небольшом числе на миниатюрные пластмассовые диски для культивирования. Клетки продолжают расти, делиться и через 4—8 дней образуют колонии, которые легко подсчитать (фиг. 33). Если же опухолевые клетки, которые только начали расти в культуре, обработать лимфоцитами, полу-



Ф и г. 33.

ченными из крови этого же больного, то часть опухолевых клеток будет убита лимфоцитами. Вырастает меньше колоний, и по этому снижению можно оценить иммунную защиту хозяина («проба на ингибирование колоний»). Рассмотренный метод дает возможность показать, что у многих больных раком имеются лимфоциты, нападающие на опухоли. Он позволил также получить неожиданное объяснение, почему лимфоциты, будучи готовыми к этому, часто не нападают на опухоль. Если опухолевые клетки на пластмассовых дисках в культуре обработать не только лимфоцитами хозяина, но и его сывороткой, то колонии опухолевых клеток продолжают свой безмятежный рост: сыворотка блокирует действие лимфоцитов на опухолевые клетки («блокирующие факторы»).

Таким образом, сегодня мы можем дать по крайней мере два объяснения, почему опухоль может расти, несмотря на иммунную защиту:

1. Число иммунных клеток недостаточно, чтобы убить все клетки опухоли.

2. Иммунные клетки нейтрализуются «блокирующими факторами» и не могут нападать на опухоль.

Обязательно ли наличие опухолеспецифических антигенов при росте опухоли?

Опухолеспецифические антигены широко распространены. Правда, во многих случаях реакция отторжения, вызываемая опухолью, недостаточно сильна. Так обстоит дело со спонтанной аденомой мыши, исследованной Риггинсом, или с саркомами (более тщательно изученными Кляйном), вырастающими после имплантации целлофана. В случае многочисленных спонтанных опухолей вообще не удалось обнаружить какую-либо антигенность.

С учетом сказанного можно сформулировать следующий вопрос: являются ли опухолеспецифические антигены неотъемлемой принадлежностью опухолевой клетки? Однозначного ответа на него пока нет. Мы еще не в состоянии объяснить, почему, как полагают, многие опухоли содержат очень мало (или вовсе не содержат) антигенов подобного типа, если эти антигены играют решающую роль в проявлении свойств опухолевой клетки. Такие антигены легче представить как следствие прогрессии опухоли, чем причину злокачественного роста, хотя это и не всегда имеет место. Но и такой вывод был бы скороспелым.

Одни и те же канцерогены могут вызывать опухоли с различной степенью антигенности. Так, «ранние» опухоли имеют более сильную антигенность, чем «поздние»; здесь, говоря о ранних опухолях, мы имеем в виду краткий латентный период, тогда как поздние опухоли связаны с длительным латентным периодом. Поздние опухоли (такое объяснение возможно) как бы более продолжительное время фильтровались через иммунную систему; при этом легче устранялись те опухолевые клетки, которые обладали большей антигенностью. Напрашивается вывод, что опухолевые клетки могут постепенно терять свои антигенные структуры, которые образовались в начале процесса малигнизации (озлокачествления).

При трансплантации опухолей исследователи обратили внимание на то, что они все более дедифференцируются («упрощаются»), а их антигенные свойства стираются. Опухоли, которые первоначально могли быть пересажены лишь ограниченному кругу реципиентов, впоследствии удавалось трансплантировать более широкому кругу животных. Это дает возможность предположить, что опухолеспецифические антигены — необходимая составная часть

первоначальной «экипировки» опухолевой клетки. И если они отсутствуют, то, значит, они утрачены.

Но почему они должны быть необходимой принадлежностью первоначальной «экипировки»? Сегодня, говоря о регуляции роста, нельзя забывать об участии в данном процессе поверхностных структур клетки. Опухолевые клетки (которые в значительной мере не подчиняются регуляции роста) также имеют измененные клеточные мембраны (см. стр.127); на основании этого можно допустить, что решающими факторами являются именно изменения в клеточных мембранах. Изменение поверхности клеток, видимо, имеет двойное следствие: клетка получает возможность уклоняться от регуляторных импульсов организма, а кроме того, изменение поверхностных структур должно означать и изменение антигенной активности. Но в таком случае новые антигены обязаны сочетаться с малигнизацией.

Существуют ли в действительности опухолеспецифические антигены?

Задавать такой вопрос, пожалуй, поздно. Однако целесообразно отметить, что опухолеспецифические антигены были выявлены исключительно в реакциях трансплантации. Положительная проба на отторжение трансплантата свидетельствовала о наличии нового антигена. Именно в этом смысле мы вправе утверждать, что такие антигены существуют.

Но из этого вовсе не следует, что кому-то когда-либо удастся выделить их в чистом виде и охарактеризовать. Надежда на это невелика. Во всяком случае, до сих пор попытки вызвать иммунную реакцию посредством клеточного экстракта вместо целых клеток не увенчались особым успехом, и даже в тех случаях, когда иммунизация была достигнута, она оказалась несравнимо слабее, чем иммунизация целыми клетками. При приготовлении клеточных экстрактов мембраны клеток и бо́льшая часть их ультраструктур разрушаются, а иммунизация зависит, по-видимому, именно от них.

Клеточные мембраны, то есть поверхности клеток, безусловно, важны для иммунологического узнавания клетки. И не только потому, что могут легко восприниматься как «лицо» клетки, но и потому, что клеточные поверхности должны «узнавать» друг друга в реакциях между опухо-

левыми клетками и лимфоцитами. Дополнительные (комплементарные) структуры можно рассматривать в качестве своеобразных опознавательных знаков: отрицательные заряды на лимфоцитах должны соответствовать положительным зарядам на опухолевых клетках, а выступающие структурные компоненты опухолевой клетки — впячиванием на поверхности лимфоцитов.

Как уже упоминалось, мембраны опухолевых клеток отличаются от мембран нормальных клеток. Эксперименты с пересадкой позволяют выявить эти отличия. Измененные ультраструктуры оказываются новыми, чужими антигенными структурами, которые иммунная система не признает. Не обязательно, чтобы индивидуальные строительные блоки клеточной поверхности подвергались изменениям. Простых изменений в комплементарной организации, в расположении соседних блоков может оказаться достаточно, чтобы появились новые антигенные структуры. Достаточно также утраты определенных строительных блоков, чтобы образовались новые группировки в мозаике из оставшихся фрагментов. При этом число новых антигенных групп весьма велико. В соответствии с таким представлением мы должны допустить, что опухолеспецифические антигены принимают форму отсутствующих позиций, «дырок» в сложных структурах, а не вариаций в основном веществе антигена или в химически сравнимых новых строительных блоках. Таким образом, на вопрос о том, действительно ли существуют опухолеспецифические антигены, биохимик-аналитик, по всей вероятности, ответит отрицательно.

Однако антигены, о существовании которых свидетельствуют опыты по трансплантации, способен разглядеть специалист в области электронной микроскопии, изучающий клеточные поверхности.

Антилимфоцитарная сыворотка способствует опухолевому росту

Потребность в иммунодепрессантах стала насущной после операций по пересадке сердца, выполненных Барнардом. К таким препаратам, которые призваны подавлять реакцию отторжения пересаженных органов, относятся цитотоксические вещества, производные кортизона и в первую очередь антилимфоцитарная сыворотка (АЛС). АЛС,готавливаемая путем иммунизации лошадей или

кроликов лимфоцитами, теоретически считается лучшим средством: она не повреждает клеток, как цитотоксические иммунодепрессанты, и не обладает побочным действием, как обработка гормонами. Тем не менее применение антилимфоцитарной сыворотки имеет свои трудности, поскольку длительное подавление иммунной системы не проходит бесследно — причем не только из-за возрастающей опасности заболевания инфекционными болезнями, но и в первую очередь из-за ослабления защиты против возникновения опухолевых клеток.

Во всяком случае, опыты на животных со всей ясностью показали, что АЛС ускоряет развитие опухолей или облегчает метастазирование. Проведенные опыты убедительно подтверждают мысль о том, что иммунные процессы играют важную роль в возникновении опухолей: опухолевая клетка находится в постоянной опасности быть опознанной и уничтоженной иммунной системой. Все сказанное выше позволяет нам со всей ответственностью заявить, что изучение иммунологии опухолей ни в коем случае не является «искусством ради искусства».

Химические канцерогены обладают иммунодепрессивными свойствами

25 лет назад Хэддоу указал на тесную связь между канцерогенностью вещества и его цитотоксическим действием. Как выяснилось, в большинстве случаев сильный канцероген был высокотоксичен для клеток. Кроме того, обнаружилось, что цитотоксические вещества блокируют иммунную систему. Многие иммунодепрессанты, применяемые в настоящее время в трансплантационной хирургии, являются производными препаратов, первоначально использованных как цитотоксические вещества в противоопухолевой терапии. Это позволяет предположить, что цитотоксические канцерогены ослабляют иммунную систему, причем между канцерогенной и иммунодепрессивной активностью обнаруживается заметная связь: чем выше канцерогенность препарата, тем активнее, например, подавляется отторжение кожных трансплантатов.

Пересадки относятся к числу весьма сложных экспериментов, поэтому для оценки функциональной способности иммунной системы под влиянием канцерогенов ученые пытались отыскать более простые методы. Так, Шернсверд



Ф и г. 34.

использовал эритроциты овцы. Если эти клетки инъецировать крысе, у крысы в течение нескольких дней образуются антитела против эритроцитов овцы; синтез антител осуществляется лимфоцитами селезенки. Последние можно изолировать и смешать со свежими эритроцитами овцы в агаре. В такой гелеобразной среде клетки оказываются неподвижными, поэтому вырабатываемые лимфоцитами антитела воздействуют лишь на находящиеся непосредственно по соседству клетки красной крови. В случае комплементарности антитела лизируют эритроциты, и некоторое время спустя в окрашенном слое эритроцитов легко выявляются светлые пятна. Такие «просветления» несложно подсчитать и оценить количество лимфоцитов, вырабатывающих антитела (проба Жерне; фиг. 34).

При помощи этой пробы Шернсверд произвел оценку иммунной способности крыс после введения 0,5 мг 3-метилхолантрена. Этого количества оказалось вполне достаточно для индуцирования злокачественных сарком в течение нескольких месяцев. Удалось обнаружить что на протяжении всего латентного периода иммунная способность

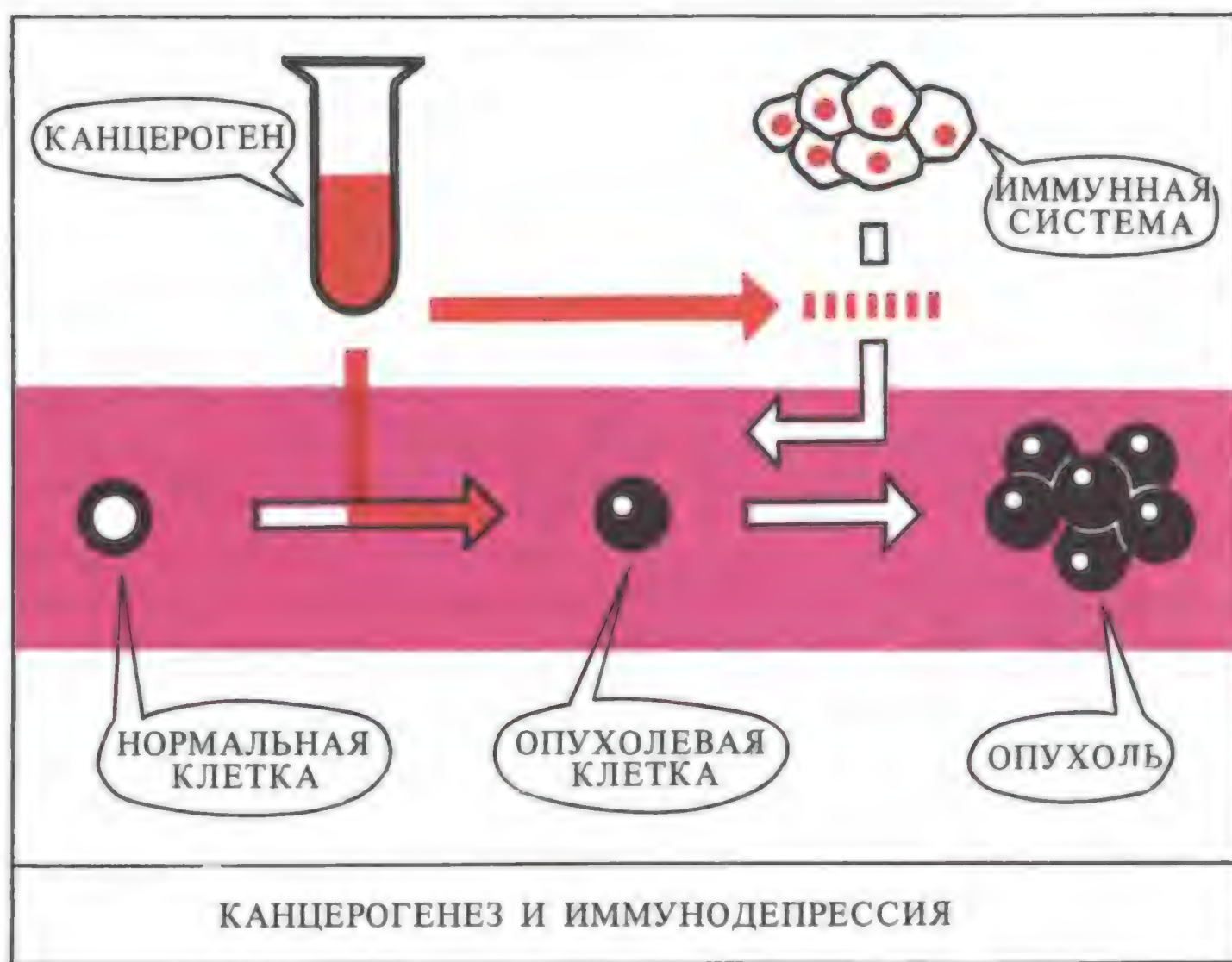
заметно снижалась. Кроме того, опыт показал, что химические канцерогены действуют как иммунодепрессанты и даже в низких дозах, достаточных для индуцирования опухолей, способны оказывать воздействие на систему иммунной защиты.

В проведенных опытах не говорится о том, что ослабление системы иммунной защиты сказывается на развитии опухоли. По-видимому, нелегко объяснить, почему иммунодепрессивное действие АЛС отражается на образовании опухоли, в то время как иммунодепрессивное действие химических канцерогенов не играет такой роли

Двойное действие химических канцерогенов

Итак, канцероген выполняет две функции: с одной стороны, способствует превращению нормальных клеток в опухолевые, с другой — повышает шансы на выживание этих опухолевых клеток, ослабляя иммунную систему (иммунодепрессия, фиг. 35).

Не исключена и такая возможность. Если в живом организме имеются потенциальные опухолевые клетки, с



Ф и г. 35

которых начинается опухоль, но которые до поры не проявляются по той простой причине, что постоянно устраняются иммунной системой, то иммунодепрессивное действие канцерогена может оказаться одновременно и канцерогенным действием — такой механизм вполне возможен.

Последствия этого были бы весьма удручающими: все биохимические исследования тканей, обработанных канцерогеном, оказались бы в таком случае всего лишь исследованиями токсического эффекта канцерогенных веществ и не имели бы никакого отношения к канцерогенезу как к таковому. Объектом исследований оказалась бы вся сложная сеть механизмов иммунной защиты, а вовсе не исследуемые клетки-мишени.

Иммунотерапия

Давнишняя мечта ученых — научиться иммунизировать против рака — наконец осуществилась, по крайней мере частично. Мыши и цыплята уже поддаются иммунизации против опухолевых вирусов и становятся устойчивыми по отношению к лейкозным вирусам. Однако иммунная защита против «химических» опухолей представляется невозможной, поскольку разнообразие вероятных опухолевых антигенов в этом случае исключает возможность приготовления препарата с широким спектром действия. Здесь мы теоретически не продвинулись ни на шаг после Эрлиха с его опытами по раку молочной железы у мышей.

Более важными, чем профилактические меры с их ограниченным спектром применения, представляются попытки иммунологической борьбы с большими опухолями. Их можно подразделить на три группы:

1. Неспецифическая стимуляция иммунных механизмов хозяина.
2. Активная иммунизация.
3. Пассивная иммунизация.

1. Нормальная иммунная защита хозяина выражена слабо. Пересадки на «иммунных» животных показали, что мыши в состоянии противостоят лишь нескольким миллионам опухолевых клеток, между тем как в солидных опухолях их гораздо больше (на несколько порядков величин). Однако еще в 1924 г. Мерфи удалось существенно подавить появление спонтанных метастазов после хирур-

гического удаления опухоли за счет стимуляции системы иммунной защиты олеиновой кислотой. В 1964 г. Мартен повторил этот опыт, хотя и с менее сенсационными результатами. (Для стимуляции иммунной системы ученый использовал зимозан.) Повторные инъекции бациллы Кальметта — Герена (БЦЖ) также усиливают реакцию отторжения трансплантата и ведут к регрессии опухолей. Со всем недавно в качестве иммуностимуляторов использовали поил И/Ц¹.

Методика неспецифического стимулирования собственных иммунных реакций организма в какой-то степени сродни алхимии. Правда, методы, применяемые в опытах по трансплантации, позволяют осуществлять направленное маневрирование, но в целом сказывается нехватка обоснованных концепций. Что же касается попыток осуществить специфическую иммунизацию, то в их основе лежат ясные представления, поэтому существует возможность применять как пассивные, так и активные методы.

2. Не исключено, что из растущей опухоли может выходить лишь небольшое число клеток; в результате иммунный ответ хозяина не достигает полной мощности. В подобном случае остаточная мощность ретикулоэндотелиальной системы может быть высвобождена за счет последующей иммунизации материалом той же опухоли. Хэддоу и Александер обнаружили, что регрессия опухоли наблюдается в тех случаях, когда иммунная система «подогрета» инъекцией клеток той же опухоли. Но при этом потребовалась местная обработка рентгеновским облучением.

3. Иммунологическую защиту против трансплантатов опухолей, по-видимому, можно приписать главным образом лимфоцитам, обладающим иммунной активностью. Это позволяет провести прямую пассивную иммунизацию хозяина. Опухоли животных, которых предстоит лечить, пересаживают на других сингенных животных, инициируя тем самым иммунную реакцию против этих опухолей. После этого могут быть получены «иммунные лимфоциты» (из селезенки, грудного протока), которые инъецируют носителям первичной опухоли.

¹ Синтетический полинуклеотид, содержащий инозин и цитозин. — *Прим. перев.*

Enhancement: парадоксальное усиление опухолевого роста при иммунизации

Если животных иммунизировать убитыми опухолевыми клетками, то, как мы уже отмечали, возможность того, что опухолевый трансплантат приживется и будет расти, снижается. Однако иногда наблюдают прямо противоположный эффект: опухоль растет быстрее у животных, предварительно иммунизированных опухолевым материалом.

Судя по всему, это усиление зависит от действия механизмов, отличных от тех, что вызывают иммунитет против опухоли. У животных с иммунитетом против опухоли имеются лимфоциты, активные по отношению к опухолевым клеткам. У животных с парадоксальным феноменом усиления опухолевого роста имеются растворимые антитела, которые также направлены против опухолевых клеток. Для выявления различий опухолевые клетки следует в одном случае проинкубировать с лимфоцитами, а в другом — с антителами иммунизированного животного. В первом случае (после обработки лимфоцитами) опухолевые клетки гибнут и более не растут; во втором (после обработки антителами) рост клеток усиливается. Чтобы объяснить феномен такого усиления, следует начать с того, что растворимые антитела присоединяются к антигенным структурам опухолевой клетки. Возможны два последствия:

1. Перегруженные опухолевые клетки теряют способность вступать в дальнейшие иммунные реакции, которые могли бы привести к появлению активных лимфоцитов.

2. Перегруженные опухолевые клетки более не могут быть атакованы лимфоцитами, поскольку участки на поверхности клетки, необходимые для «узнавания» лимфоцитами, покрыты антителами и, таким образом, недоступны.

В обоих случаях нормальная реакция иммунных лимфоцитов против опухолевых клеток подавляется; в результате надзор за опухолевыми клетками нарушается, и опухоль может беспрепятственно расти.

Феномен усиления опухолевого роста является своего рода дамкловым мечом иммунотерапии опухолей. До тех пор пока нельзя будет с уверенностью предсказать, приведет ли иммунотерапия к повышению иммунологической защиты или вызовет феномен усиления опухолевого роста, результаты иммунологических мер, направленных на подавление

роста опухоли, могут оказаться противоположными ожидаемым: вместо разрушения опухоли может произойти усиление опухолевого роста.

Заключение

Открытие опухолеспецифических трансплантационных антигенов свидетельствует о существовании в теле хозяина системы надзора за опухолью. Химически индуцированная опухоль А иммунизирует своего хозяина против второй трансплантации той же опухоли, правда, при достаточно низком числе клеток. Высокое же число клеток при трансплантации способно легко преодолеть иммунологические барьеры. Иммунизация против химически индуцированных опухолей довольно специфична: опухоли, помимо использованной для иммунизации, как правило, могут быть пересажены без «сопротивления».

Что же касается опухолеспецифических антигенов вирусных опухолей, то они одинаковы во всех опухолях, индуцированных данным (ДНК) вирусом, причем антигены самих вирусных частиц не идентичны.

Антилимфоцитарная сыворотка усиливает опухолевый рост; по-видимому, иммунодепрессивный побочный эффект химических канцерогенов играет немаловажную роль в канцерогенезе.

Иммунотерапия опухолей направлена на активацию систем иммунной защиты. Активная и пассивная иммунизация в совокупности с классическими методами терапии может привести к регрессии опухоли. Неспецифическая активация иммунной системы также может быть использована в терапии.

Иногда при иммунизации опухолевым материалом наблюдается усиленный опухолевый рост: этот феномен усиления — серьезная помеха в иммунотерапии опухолей.

История изучения некоторых опухолевых вирусов

«Рак — заболевание не инфекционное». Эта сентенция, подкреплённая многовековым опытом хирургов и патологов, в конце концов стала незыблемой как гранит; вот почему при обращении с опухолевым материалом никогда не принимались никакие меры предосторожности, отделения с раковыми больными не изолировались. Мысль о том, что вирусы иногда могут вызывать рак, казалась смехотворной. Вирусы могут вызывать ветряную оспу и грипп, но какое отношение они имеют к раку желудка и лёгкого?

Однако вирусология всегда была революционной наукой. Первый голландский вирусолог, Марциус Виллем Бейеринк (1851—1931), ботаник по профессии, потряс своих коллег заявлением, что ему удалось перевить мозаичную болезнь табака бесклеточным экстрактом, полученным от больных растений. Бейеринк очищал экстракты, пропуская их через толстые фильтры, которые, судя по всему, задерживали все бактериальные клетки. Однако согласно представлениям бактериологов бактериальные клетки — необходимая предпосылка для передачи инфекции; значит, «бесклеточные экстракты» никак не могли быть заразными.

Не удивительно, что первых вирусологов попросту поднимали на смех, заявляя, что у них дырки либо в фильтрах, либо в голове. В ответ Бейеринк терпеливо писал: «Наличие таких инфицирующих агентов доказывает, что жизнь — если важнейшими ее признаками считать процесс обмена веществ и воспроизводство — может существовать и вне связи со структурами. В своей наиболее примитивной форме жизнь подобна пламени и, как пламя, питается живой субстанцией; пламя это не возникает из ничего, а передается пламенем же». На языке старой теории элементов можно было бы говорить об «огне и воде».

Бейеринк, будучи человеком упрямым, и в жизни проявлял склонность к бунтарству. Когда он получил назна-

чение в политехническую школу в Дельфте, ему пришлось обсуждать с директором проблемы реорганизации. На замечание директора о том, что администрацию следует сохранить, Бейеринк ответил: «Если что-либо и следует упразднить, так это пост директора». С проблемами подобного рода приходится сталкиваться и сейчас. Возвращаясь же к теории Бейеринка, мы должны признать, что она была быстро дискредитирована.

Вскоре было установлено, что даже «фильтрующиеся вирусы» имеют определенные размеры, которые можно установить с помощью калиброванных фильтров. Однако вирусы нельзя культивировать на искусственных средах, для их воспроизводства требуются живые клетки. Для вирусов хорошо подходит образное выражение «жизнь взаимы» или такие определения, как «паразиты на внутриклеточном уровне» и «бродячие гены». Вирусы вынуждают клетку-хозяина поставлять энергию и материал для воспроизводства новых вирусов. Когда они перенимают команду, клетка начинает работать против самой себя ради выполнения их задания. Клетки, зараженные вирусом, отмечены печатью смерти, но и вирус без клетки мертв.

Когда Стенли установил, что вирус табачной мозаики (ВТМ) способен кристаллизоваться, многим ученым показалось, что вирусы полностью выпадают из области биологии. Сегодня возбуждение по поводу «кристаллической жизни» поутихло, а вирусология заняла достойное место в биологической корпорации.

Однако на долю исследователей, занимающихся опухолевыми вирусами, выпал иной жребий: они вынуждены были продолжить борьбу за свое признание, ибо с самого начала их гипотезы оказались в прямом противоречии с двумя основными догмами медицины:

1. Они открыто отрицали учение Вирхова о раке как о клеточной, и только клеточной болезни. Согласно учению Вирхова, раковая клетка становится раковой «сама по себе»; в паразитах нужды нет.

2. Иногда они не признавали и постулатов Коха. Роберт Кох утверждал (а все бактериологи утверждают это и до сих пор), что причину инфекционного заболевания можно установить лишь после выполнения ряда требований:

- а. В каждом конкретном случае заболевания необходимо выявить микроорганизм. При этом важнейшую помощь оказывают микроскоп и агаровые диски.

б. Возбудителя нужно вырастить в чистой культуре.

в. Такие чистые культуры должны обладать способностью вызывать заболевание у подходящих животных.

г. У заболевшего животного необходимо выделить возбудитель и подвергнуть его дальнейшему культивированию.

Самому Коху и многим его последователям, придерживающимся этих правил, удалось выявить возбудителей многочисленных инфекционных заболеваний. Но уже Пастеру приходилось, как говорится, срезать острые углы. Правда, и он мог переносить возбудителя бешенства от одной собаки к другой и даже от кролика к кролику, однако он не был в состоянии ни видеть этот вирус, ни культивировать его вне живого организма.

Вирусологи опухолей сталкиваются с еще большими трудностями. Им также не удастся разглядеть опухолевые агенты под микроскопом; не могут они и культивировать их в искусственных средах. Но еще более удручает то обстоятельство, что часто они не в состоянии выделить вирус даже из тех опухолей, которые сами же индуцировали с помощью бесклеточных экстрактов: вирус как бы исчезает из этих опухолей. Часто в таких опухолях нельзя не только обнаружить характерные частицы вируса, но даже приготовить инфекционные экстракты вирусных опухолей. В подобных случаях вирусологи пользуются термином «маскированный вирус».

Однако на самом деле вирусы вовсе не исчезают: сначала обнаруживаются их следы, а затем и сами маскированные вирусы. Вирусы как бы отдыхают: ведь вовсе не обязательно заставлять хозяина создавать одну вирусную частицу за другой до саморазрушения! Более того, клетка может пережить вирусную инфекцию, но подчас слишком дорогой ценой: она утрачивает свою пригодность для высшего организма, становится опухолевой клеткой и тем самым убивает весь организм и, как следствие, самое себя.

А теперь рассмотрим наиболее важных представителей опухолевых вирусов.

Лейкозы у кур

Хронические лейкозы не редки у кур. При этом поражаются костный мозг и лимфоидные органы, такие, как селезенка или лимфатические узлы. Кроме того, куры заболевают «красной лейкемией», когда в крови преобладают незрелые эритроциты — эритробласты.

В 1908 г. Дейнс Эллерманн и Бэнг обнаружили, что эритробластозы можно перевивать при помощи бесклеточных экстрактов. «Фильтрующиеся агенты» содержатся в крови больных кур в таких количествах, что 1 нл¹ крови оказывается достаточным, чтобы заразить здоровую птицу.

История опухолевых вирусов могла бы начаться именно с этого открытия, но в то время лейкозы не признавались «раковыми заболеваниями». Таким образом, догма об исключительно клеточной природе рака оставалась пока не потревоженной.

Помимо эритробластозов, у кур наблюдаются миелоидные лейкозы. Эта форма также вызывается вирусом и может перевиваться бесклеточным экстрактом. К сожалению, куры даже в пределах одного штамма проявляют чрезвычайную вариабельность в реакции по отношению к этим вирусам. Поэтому для получения статистически достоверных данных требуется большое число животных. Дж. У. Бёрд и Д. Бёрд, пытаясь преодолеть эту трудность, разработали конвейерную методику, благодаря которой получение достаточного количества вирусов перестало быть проблемой: в 1 мл крови может содержаться 10^9 «инфекционных» вирусных частиц. Для концентрации этих частиц достаточно простого ультрацентрифугирования.

Лимфоидные же лейкозы (лимфолейкозы) в течение долгого времени не поддавались перевивке. Это было особенно досадным, так как именно лимфолейкозы причиняли большой экономический ущерб. Там, где интенсивное выращивание кур ведется на ограниченных площадях, почти половина птиц может поражаться этим заболеванием. Лимфолейкоз стал своего рода «культурным заболеванием» кур.

При этой форме лейкозные клетки обычно «застревают» в ткани и не выносятся обратно в ток крови («алейкозная форма»). Скопления лимфоцитов встречаются главным образом в сильно увеличенной печени, а также в легких, поджелудочной железе, почках и даже в коже.

Успешная пересадка лимфоматозной ткани удалась лишь в 1941 г., а пять лет спустя Бурместер с сотрудниками (Исследовательская лаборатория по птицеводству, Ист Лэнсинг, штат Мичиган) сообщил о первой успешной перевивке бесклеточным экстрактом. А еще через десять лет появились

¹1 нл = 10^{-9} л. — Прим. перев.



Ф и г. 36.

первые вакцины. Первая защитная инъекция против рака стала реальностью. Радость победы несколько омрачилась тем, что успех был достигнут «пока лишь» в отношении вирусных опухолей.¹

В Ист Лэнсинге предпринимались энергичные попытки выяснить, каким образом распространяется лимфоматоз. Были обнаружены два пути:

1. Заболевание может передаваться потомству через яйцо (так называемая «конгенитальная» или «вертикальная» инфекция, фиг. 36).

2. Наблюдалось и прямое заражение: если кур здорового штамма поместить вместе с больными птицами, то здоровые птицы также заболевают лимфоматозом. Более тщательное изучение показало, что инфекция передается по воздуху, но при этом заражаются лишь цыплята («горизонтальная» инфекция).

Таким образом, лимфоматоз цыплят имеет характер

¹ Единственной внедренной в практику вакциной против рака является вакцина, созданная под руководством проф. Н. П. Мазуренко в Онкологическом научном центре АМН СССР. — *Прим. перев.*

классического вирусного заболевания, так же как и эпидемический грипп или тривиальный насморк. «Разве не представляло бы интереса, если бы и другие опухолевые вирусы могли распространяться подобно простому насморку?» — спрашивает Р. Дж. Хьюбнер из Национального института здравоохранения. Конечно, это интересно, но не слишком радостно.

Однако тщательные исследования до сих пор не позволили сделать вывод о том, что опухоли человека могут передаваться путем инфекции. Подобные исследования невероятно трудны, поскольку необходимо учитывать крайне длительный латентный период после успешного «заражения», прежде чем опухоль может быть диагностирована. Получение четкого анамнеза в таких случаях возможно лишь в редких случаях. Если бы от заражения вирусом гриппа до проявления болезни проходили десятилетия, то этиология этого заболевания скорее всего не была бы сегодня столь ясной.

Вирус саркомы Рауса (BCR)

Вирус саркомы Рауса, безусловно, опухолевый вирус номер один. По поводу того, являются ли лейкозы кур настоящим раком, много спорили. Однако в случае солидной саркомы было значительно легче решить, опухоль это или нет.

Пейтону Раусу, молодому патологу из Рокфеллеровского университета, первому удалось перевить спонтанную саркому кур с помощью бесклеточного экстракта (1910). Он приготовил экстракт из саркомы груди курицы породы плимут рок, очистил его пропусканием через бактериальные фильтры и ввел в грудную мышцу молодых цыплят той же породы. У некоторых птиц развились опухоли, которые метастазировали в легкие, печень и другие органы так же, как и первоначальная опухоль. Раус был уверен, что при помощи этого экстракта ему удалось индуцировать истинные опухоли. Сомнений в том, что в процессе замешан вирус, не оставалось. И все же ученый сохранял осторожность и без лишнего риска назвал свой вирус саркомы «опухолевым агентом». Несмотря на это, ученые не удостоили его своим вниманием, а маститые исследователи в области клеточной патологии отказались принять гипотезу Рауса даже в такой формулировке; чтобы поверить в «бесклеточный рак», одного вируса им было мало.

И действительно, трудности с бесклеточным пассированием опухоли все возрастали. Бесклеточные препараты обычно содержали мало вирусов, результатом чего в лучшем случае был низкий процент зараженных животных; случалось, что перевивка и вовсе не удавалась. «Опухоли, богатые вирусом,— это искусственный лабораторный продукт,— так заявлял даже Оберлинг, восторженный апологет общей вирусной этиологии рака,— искусственная форма, которую получают путем продолжительной перевивки на очень молодых животных в течение длительного периода времени».

Вирус папилломы Шоупа у кроликов

У диких кроликов, прозванных «хлопковый хвостик» и обитающих в штатах Канзас и Айова (США), издавна отмечались бородавчатые разрастания. Некоторые бородавки были настолько велики, что охотники называли их «рогами».

В начале 30-х годов Р. Е. Шоуп попытался перевить такие опухоли с помощью бесклеточных экстрактов домашним кроликам. Опухоли измельчали, фильтровали, а фильтрат втирали в кожу кроликов после предварительного ее повреждения наждачной бумагой. Первые папилломы появлялись примерно через неделю.

Дикие кролики также могли заражаться с помощью таких экстрактов, но при этом наблюдались важные различия (фиг. 37):

1. У диких кроликов опухоли растут медленно и, как правило, ведут к образованию больших ороговевающих бородавок («папиллом»). Их можно соскоблить, в результате чего возможно даже спонтанное выздоровление (самоизлечение). У домашних кроликов папилломы растут быстрее и с меньшим ороговением, чем у диких кроликов.

2. Сам вирус у домашних и диких кроликов ведет себя по-разному. Вирусы в медленно растущих папилломах (у диких кроликов) можно наблюдать под электронным микроскопом и даже переносить на других животных с помощью бесклеточных экстрактов. Опухоли же домашних кроликов не содержат свободных вирусов. Экстракты из таких опухолей не вызывают опухолей у других кроликов.

Поэтому никому бы и в голову не пришло, что опухоли домашних кроликов являются вирусными. Ведь, хотя они



Ф и г. 37.

и вызываются вирусом, самого-то вируса в опухолях не обнаруживается. Разумеется, он не исчезает бесследно. И здесь мы можем говорить о маскированном вирусе. Что это означает на молекулярно-биологическом уровне, мы узнаем из последующих глав.

Фактор молока Биттнера

Существуют штаммы мышей с высокой заболеваемостью раком молочной железы и штаммы, у которых эта опухоль не встречается. При скрещивании таких штаммов наблюдаются удивительные вещи: оказывается, имеет значение, кто из родителей принадлежал к опухолевому штамму. У потомства рак молочной железы развивался гораздо чаще, если к опухолевому штамму принадлежала мать. Поскольку этот феномен противоречит законам Менделя, исследователей заинтересовало, не связано ли наследование рака с внехромосомными факторами.

Но в 1936 г. Биттнер нашел этому простое объяснение: в материнском молоке имеется фактор, ведущий к развитию

рака молочной железы. Если мышат опухолевого штамма вывести на свет путем кесарева сечения и дать им «кормилицу» из штамма, устойчивого против опухоли, то рака молочной железы у мышей впоследствии не будет. Они как бы «забывают» свою генетическую предрасположенность к раку. Обратный эксперимент был в равной мере успешным: у молодых мышат из штамма, устойчивого против опухоли, развивался рак молочной железы, если им давали «кормилицу» из опухолевого штамма. Биттнер назвал открытый им фактор «фактором молока» и придерживался этого нейтрального определения даже после того, как была доказана вирусная этиология опухоли (передача бесклеточным экстрактом, размножение у чувствительных животных, выделение вирусных частиц ультрацентрифугированием, обнаружение под электронным микроскопом).

Довольно скоро было установлено, что для образования рака молочной железы у этих мышей одного вируса недостаточно. Фактор Биттнера оказался эффективным лишь у некоторых штаммов. Здесь мы наблюдаем значение как генетического предрасположения, так и штаммспецифической чувствительности клеток молочной железы. Кроме того, раки молочной железы у мыши могут образоваться лишь в том случае, если животное находится в «благоприятном» гормональном состоянии; если же яичники мыши удалены, то производство женских половых гормонов в значительной мере приостанавливается и рака молочной железы не возникает.

В заключение следует отметить, что вирус Биттнера может индуцировать раки молочной железы при наличии определенной генетической комплементарности и при достаточном производстве женских половых гормонов. Нельзя также не учитывать возраст мыши: заражение непосредственно после рождения ведет к образованию опухолей у взрослых животных в 100% случаев, но если заражать 20- или 120-дневных мышей, то возникновение опухоли снижается до 60 и даже 10%. С этим, естественно, приходится сталкиваться лишь в тех случаях, когда животное сразу не инфицируется материнским молоком.

Мыши заболевают лишь при «согласовании» всех факторов. «Несомненно, пора отбросить устаревшие представления о причинности и начать мыслить с учетом множественной корреляции», — писал Джулиан Хаксли, и данные Биттнера хорошо иллюстрируют его мысль.

Полиома

Лейкозы мышей также можно перевивать с помощью бесклеточных экстрактов. В 1951 г. Л. Гроссу удалось приготовить бесклеточный экстракт из органов лейкозной мышцы, который вызвал лейкоз у новорожденных мышат.

Опыты Гросса повторила Сара Стюарт; она также перевила лейкоз мышей. Однако, к удивлению исследовательницы, у инбредных штаммов лейкозы отсутствовали. Зато через 10 мес. у них возникли опухоли околоушной железы и надпочечника. А затем начались привычные уже осечки: из опухолей околоушной железы не удавалось приготовить активных бесклеточных экстрактов; вирус, вызывающий опухоль, «пропадал».

Вскоре Сара Стюарт начала сотрудничать с Б. Е. Эдди из Национального института здравоохранения. Эдди создал большую лабораторию, специализирующуюся на ведении культуры тканей; в этой лаборатории была проделана значительная часть работы, впоследствии приведшей к созданию вакцины против полиомиелита. Клетки почек обезьяны оказались идеальной «питательной средой» для вируса полиомиелита.

Стюарт и Эдди попытались размножить новый «паротидный вирус» на таких клетках почки. Результаты оказались весьма скромными: как и ранее, «выход» опухолей был довольно низким. Возможно, дело заключалось в том, что данный вирус, вызывающий опухоли у мышей, не мог размножаться на клетках обезьяны. Поэтому Стюарт повторила опыт, теперь уже на клетках культуры мыши. Из эмбрионов мыши после тщательного измельчения и трипсинизации приготавливали суспензии клеток, которые затем высевали в сосуды для культивирования; полученные в результате слои клеток обрабатывали органическим экстрактом лейкозных мышей.

Теперь вирус показал все, на что был «способен»: бесклеточные препараты инфицированных клеток мышинных эмбрионов индуцировали злокачественные опухоли почти у 100% животных. Однако удивительным оказался не только высокий выход опухолей: обогащенные вирусом экстракты более не давали опухолей околоушной железы.

«Часто поражался тимус (вилочковая железа), который находился непосредственно над сердцем; во многих случаях опухоль этой железы заполняла всю грудную полость. Вопреки правилу, согласно которому опухоль молочной железы развивается лишь у

самок, этот вирус вызывал рак молочной железы и у самцов. Опухоли легкого были обычно того типа, когда поражается мезотелий плевры, причем покрывали все легкое как бы чехлом, который можно было наблюдать невооруженным глазом. Раки кожи часто покрывали поверхность всего тела. Опухоли развивались и в потовых железах, находящихся лишь на безволосых участках кожи лапок. Все злокачественные опухоли были эпителиального типа и классифицировались как раки. Однако вирус вызывал и саркомы: опухоли соединительной ткани, костей, почек, выстилки кровеносных сосудов и кисты печени. Мы наблюдали даже опухоли нервной ткани, индуцированные данным вирусом» (Стюарт).

При больших дозах наблюдалась поразительная вирулентность. Иногда у одной мыши развивалось до 10 различных типов опухолей. Поэтому исследователи дали новому вирусу название «полиома» — «вызывающий много опухолей».

Но один ли это вирус? Не замешано ли здесь целое семейство вирусов? Если это различные вирусы, то можно ожидать, что при содержании вирусов в культуре ткани одни из них размножались бы лучше, чем другие. В таком случае после многочисленных пассажей одни вирусы должны были бы погибнуть, тогда как другие получили бы преимущество. Однако даже после почти 100 пассажей в культуре ткани вирус продолжал вызывать такой же спектр опухолей. На основании этого исследователи заключили, что полиома не является смесью различных вирусов, обладающих сродством к различным органам. Этот вывод нашел окончательное подтверждение в опытах на «генетически чистых» штаммах полиомы — штаммах, полученных от одной вирусной частицы. Каждая такая чистая культура полиомы вызывала такое же разнообразие опухолей, как и первоначальные препараты вируса.

Однако на этом сюрпризы полиомы не закончились. Опухолевые вирусы, известные ранее, были весьма разборчивы в выборе хозяина. Так, вирус Биттнера растет лишь на некоторых штаммах мышей. Полиома же с легкостью преодолевала барьеры не только между штаммами мышей, но и между видами: вирус вызывает опухоли у хомячков, крыс и кроликов. Наиболее чувствительными оказались хомячки: у них опухоли развиваются через две недели.

Возникает вопрос: почему не приходится сталкиваться с вирусом полиомы в природе? Скептики снова получают возможность заявить, что опухолевые вирусы — всего лишь искусственный лабораторный продукт. Однако тому есть «естественные» объяснения.

Вирионы полиомы являются замечательными антигенами. В крови животных, которым инокулировали данный вирус, имеются антитела, направленные специфически на этот вирус, независимо от того, есть ли у животного опухоли или нет. Даже у животных, которые просто находились в одной клетке с обработанным вирусом мышами, во многих случаях развивались антитела. Да и к человеку полиома не имеет никакого почтения: у многих сотрудников Стюарт, которые в течение ряда лет работали с этим вирусом, также имеются антитела, специфические по отношению к нему.

В колониях мышей вирус распространяется через слюну и экскременты. Антитела полиомы могут передаваться мышатам от матери, поэтому спонтанные опухоли полиомы редки. Лишь в культуре ткани, где антител нет, вирусы полиомы могут развиваться в больших количествах.

Вирусы лейкоза и саркомы у мышей

Как мы уже отмечали, лейкозы у мышей могут передаваться бесклеточным экстрактом так же, как и лейкозы у кур. Имеется серия различных вирусных штаммов, названных по имени первооткрывателей: Гросс (1951), Френд (1957), Раушер (1962).

Захс предложил простой количественный тест на вирус Раушера: разведенный раствор вируса инъецируют в хвостовую вену взрослой мыши. Через девять дней в селезенке образуются узелки, которые можно легко подсчитать.

Лейкозные вирусы мыши находятся в родстве с лейкозными вирусами птиц (вирус саркомы Рауса и недавно открытый вирус саркомы мышей также принадлежат к этому семейству). Об этом свидетельствует иммунологическое и морфологическое семейное сходство:

1. Вирусы имеют общие (обладающие групповой специфичностью) антигены.

2. Под электронным микроскопом они обнаруживают характерные формы (темная сердцевина с несколько отстоящей внешней оболочкой); так называемые С-частицы принадлежат к этому семейству.

Опухолевые РНК-содержащие вирусы, обладающие такими иммунологическими и морфологическими признаками, недавно были обнаружены также у кошек, хомяков и собак. Иногда С-частицы выявляются и в клетках человека.

Долгое время бородавки оставались единственными (доброкачественными) новообразованиями у человека с доказанной вирусной этиологией. (Вирус, вызывающий бородавки, родствен вирус папилломы Шоупа.)

Хотя прямых доказательств вирусной этиологии лейкозов у человека нет, они находятся под сильным подозрением. Правда, С-частицы в клетках лейкозных больных постоянно обнаруживались под электронным микроскопом, но доказать, что именно они вызывают лейкозы, естественно, невозможно. Все же цепочка доказательств становится длиннее. В конце концов, почему С-частицы у кур, мышей и кошек могут вызывать лейкозы, а у человека нет? Галло с сотрудниками недавно показал, что в клетках острого лимфобластического лейкоза у человека содержится фермент, который в нормальных лимфоцитах человека не обнаруживается и, по-видимому, характерен для опухолевых РНК-содержащих вирусов. (Подробнее на этом мы остановимся в конце следующей главы.)

В последние годы «первой» вирусной опухолью человека принято считать так называемую лимфому Бэркита. Злокачественная лимфома шеи и нижней челюсти часто встречается в некоторых районах Экваториальной Африки. Эпидемиологические, иммунологические и электронно-микроскопические исследования свидетельствуют о причастности вируса, относящегося к группе *herpes*. Как полагают, сходный вирус вызывает давно известную опухоль Люка в почках лягушки.

Какова будет следующая вирусная опухоль у человека? В «кандидатах» недостатка нет: уже давно под подозрением находится рак молочной железы. Здесь нет необходимости предпринимать длительные поиски вирусов: они уже найдены, причем даже в молоке. Вирусы эти сходны с фактором Биттнера у мыши, относятся к так называемым В-частицам и содержат фермент-обратную транскриптазу, так же как и многие другие РНК-вирусы (см. стр. 218). Было установлено, что они чаще выявляются у женщин, в семье которых рак молочной железы уже был зарегистрирован (Мур). И наконец, Спигелмену удалось обнаружить в опухолях молочной железы РНК с нуклеотидной последовательностью, сходной с таковой же фактора Биттнера. Это обстоятельство позволило Спигелмену заявить: «Если у

женщины в семье уже наблюдался рак молочной железы, а у нее самой (в молоке) выявляется вирус, то, будь она моей сестрой, я бы ей не посоветовал кормить своим молоком ребенка».

Это вполне последовательная точка зрения: ведь Биттнеру удалось показать, что вирус опухоли молочной железы у мышей может передаваться через молоко. Для предупреждения рака молочной железы у мышей достаточно было подсаживать новорожденных мышат к кормилице, свободной от вируса. У человека, по-видимому, эти взаимоотношения неизмеримо запутаннее: «За последние 30—40 лет значительно реже кормят детей грудью, между тем заболеваемость раком молочной железы даже слегка возросла» (Шубик). Тем временем Мур обнаружил, что в молоке матерей содержатся не только В-, но и С-частицы. Более того, сомнительны различия, которые будто бы имеются среди женщин, в семьях которых наблюдался или не наблюдался рак молочной железы. На основании этого был сделан вывод, что эти вирусы, по-видимому, довольно широко распространены. Но было бы неверным считать, что вирусы не играют роли в развитии опухоли молочной железы у человека. Отчетливо выраженная причина заболевания и роль родственных взаимоотношений, которые были продемонстрированы Биттнером на мышах, у человека смазываются слишком большим числом побочных факторов (генетических, гормональных, диетических, экологических, социальных).

Вирусы человека и обезьяны: аденовирусы и SV-40

Клетки почек обезьяны в больших количествах используются для приготовления вакцины против полиомиелита. В таких культурах был обнаружен вирус обезьян, вызывающий опухоли у новорожденных хомяков. (SV-40 — обозначение определенного типа симианского вируса.) Хотя до сих пор неизвестны случаи заболеваний человека, к которым мог бы иметь отношение SV-40, заражения вакцины против полиомиелита этим вирусом следует опасаться.

Кроме того, SV-40 может трансформировать клетки культуры тканей до аномальных, опухолеподобных форм. Подобная трансформация возможна не только с клетками хомяка, но и с клетками человека. Если трансформированные клетки хомяка имплантировать молодым животным,

то по мере роста у животных возникают опухоли. Вряд ли нужно говорить о том, что на человеке опыты с клетками, трансформированными SV-40, невозможны.

Однако SV-40—не единственный вирус, вызывающий опухоли у приматов. Онкогенными оказались даже «тривиальные» вирусы гриппа человека. Эти аденовирусы удалось сначала выделить из аденоидов инфицированных детей; затем их неоднократно обнаруживали во время эпидемий гриппа. У солдат-новобранцев, находящихся в непривычном окружении и особенно чувствительных к новым вирусам, эти вирусы часто вызывают ангину.

У новорожденных хомячков инъекции аденовирусов вызывают опухоли. Не все вирусы этого типа онкогенны, но вирус Адено-12 (из общего числа около 30) является примером опухолеобразующего вируса.

Классификация вирусов животных

По-видимому, между опухолевыми и «классическими» вирусами нет существенных различий. Классификация вирусов возможна по различным признакам (фиг. 38, табл. 5).

РНК или ДНК. Обычно вирусы содержат ядро из нуклеиновой кислоты и белковую оболочку. Нуклеиновая кислота может быть либо ДНК, либо РНК, соответственно и вирусы разделяются на ДНК- и РНК-содержащие.

Спиральные или кубические. Отдельные строительные блоки белковой оболочки могут собираться в кубическую

Таблица 5

Классификация вирусов, патогенных для животных

РНК	Спиральная ДНК с оболочкой	РНК	Кубическая ДНК	
			с оболочкой	без оболочки
Грипп Лейкоз мышей Фактор молока Биттнера Лейкозы птиц Саркома Рауса	Миксома Оспа Фиброма Шоупа	Энтеровирусы Реовирусы Полиомиелит	Герпес	Аденовирусы Полиома Папиллома Шоупа SV-40 Адено-12 Бородавки (у человека)

ОСНОВНЫЕ ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ

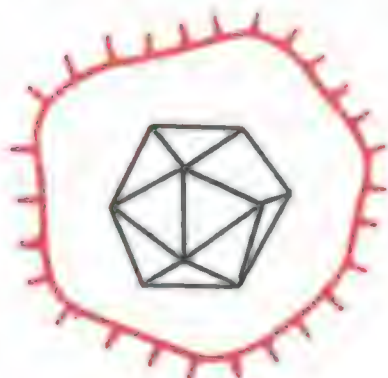


КУБИЧЕСКАЯ
(ПОЛИОМА)

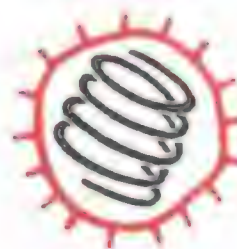


СПИРАЛЬНАЯ
(ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ)

ВИРУСЫ С ОБОЛОЧКОЙ И БЕЗ ОБОЛОЧКИ



ГЕРПЕС



ГРИПП



АДЕНОВИРУС



ПОЛИОМА



ПОЛИОМИЕЛИТ

или спиральную структуру. Классическим примером спирального вируса является ВТМ, который, бесспорно, не относится к вирусам животных. Напротив, вирусы полиомы и аденовирусы имеют форму кубических кристаллов. ДНК находится внутри такого кристалла, а белки располагаются по углам икосаэдра¹.

С оболочкой или без оболочки. Основа вируса (нуклеиновая кислота + белковая оболочка) может быть (а может и не быть) заключена еще в одну оболочку. Нередко часть второй оболочки состоит из компонентов клеточной мембраны. Форма вирусной спирали иногда особенно удачно «вписывается» в такую оболочку.

Большие или маленькие. Наконец, вирусы можно классифицировать просто по размерам; можно, в частности, говорить о «маленьких ДНК-вирусах», таких, как вирус полиомы или SV-40.

В пределах рассмотренной схемы опухолевые вирусы не удастся выделить в особую группу: вирус гриппа стоит рядом с ВСР, а аденовирусы рядом с полиомой.

Однако возможны и более далеко идущие связи. Один и тот же вирус может выступать как опухолевый и как классический. Например, особый тип вируса, вызывающий ангину — Адено-12,— является бесспорным канцерогеном: введение его новорожденным хомячкам ведет к быстрому возникновению метастазирующих сарком.

Особенно наглядно двойственная природа вирусов проявляется в случае вируса гриппа. У мышей, обработанных таким вирусом, развивается заболевание, напоминающее грипп. Если их обработать табачным дымом, то ничего не случится. Если же мышей обработать одновременно табачным дымом и вирусом гриппа, то у них разовьются опухоли легкого (Лёйхтенбергер). Таким образом, в комбинации с «безвредным» табачным дымом вирус становится опухолевым. Этот пример убедительно показывает, как классические вирусы могут превращаться в опухолевые.

Широко распространено и обратное явление, когда опухолевые вирусы ведут себя как «нормальные». У очень молодых животных опухолевый вирус может вызывать разрушение клеток с последующими кровоизлияниями. Это наблюдалось в случае вируса папилломы Шоупа и саркомы Рауса.

¹Двадцатигранника. — Прим. перев.

Пока мы можем только предположить, что решение о том, вызовет ли данный вирус опухоль или нет, в значительной мере зависит от клетки-мишени. Но отложим более глубокое рассмотрение этого вопроса и обратимся прежде всего к поведению вирусов в культуре ткани. Объем книги заставляет нас ограничиваться небольшими ДНК-содержащими вирусами полиомы и SV-40.

Заключение

Исследователи рака не были участниками триумфального шествия бактериологии на заре XX в.: все попытки вызвать опухоли у животных под воздействием бактерий провалились. Микроорганизмы, которые удавалось выделить из опухолевой ткани, оказывались либо безвредными, либо возбудителями вторичной инфекции. Поэтому к существованию опухолевых вирусов на первых порах относились с большим недоверием, однако с течением времени многочисленные онкогенные вирусы завоевали прочное место в арсенале факторов, вызывающих опухоли. Вирусы могут вызывать опухоли самого различного рода: опухоли кожи (вирус папилломы Шоупа), карциномы почек (полиома), раки молочной железы (фактор молока Биттнера) и многие другие. Над ними возвышаются саркомы (вирус саркомы Рауса) и всевозможные лейкозы у кур, мышей и описанные недавно лейкозы у кошек.

Опухолевые вирусы не имеют принципиальных отличий от вирусов, проявляющих «классическую» патогенность у животных: вирусы лейкоза относятся к той же группе, что и вирусы гриппа. Вирусы одного и того же типа могут обладать как онкогенным, так и «классическим» (убивающим клетку) действием: некоторые типы аденовирусов, вызывающих ангину, ведут к образованию опухолей у новорожденных хомяков.

Опухолевые вирусы обладают способностью «исчезать» из индуцированных ими опухолей. Например, вирус папилломы Шоупа «исчезает» из быстро растущих папиллом домашнего кролика.

Опухолевые ДНК-вирусы в культуре ткани

В настоящее время исследователи открывают все большее число опухолевых вирусов и опухолей, которые могут вызываться вирусами. Однако долгое время положение вирусологии в онкологии было весьма сомнительным.

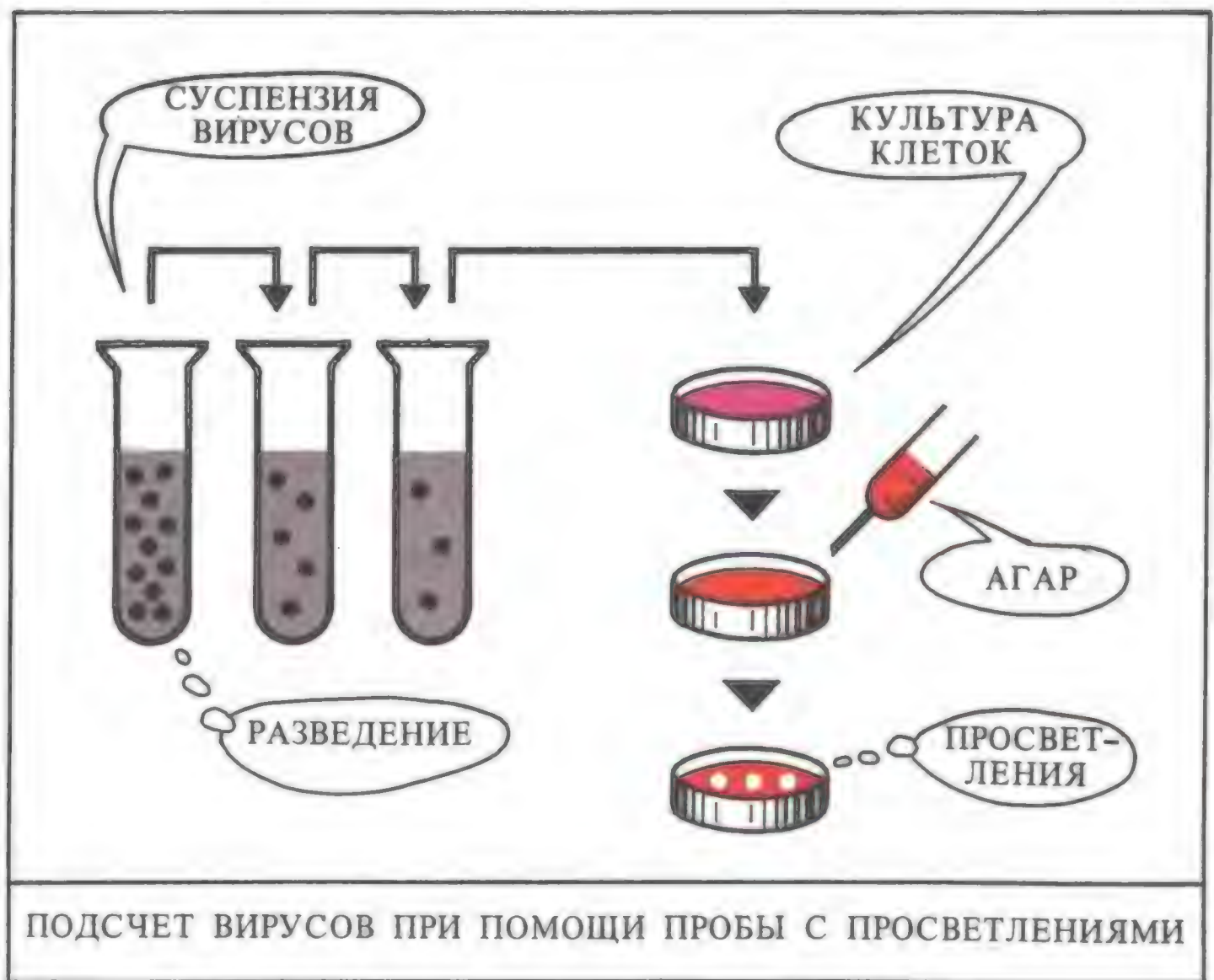
Во многих случаях отсутствовали доказательства того, что опухоли действительно были вирусного характера, поскольку из многих опухолей, вызываемых вирусами, вирус «исчезал». Таким образом, доказать вирусную этиологию, пользуясь классическими критериями бактериологии, было невозможно.

Встречались трудности и чисто методического порядка: из-за длительных латентных периодов, длящихся несколько месяцев, а то и свыше года, ставить быстрые опыты было нельзя. Точные эксперименты оставались неосуществленными: многие подопытные животные по-разному реагировали на вирусные препараты, а сами препараты по своей активности существенно отличались в разных сериях. Положение дел в корне изменилось лишь тогда, когда ученые прибегли к методам культур тканей для решения стоящих перед вирусологией опухолевых проблем. «Некоторые опухолевые вирусы легко размножаются в таких культурах, что делает возможным как точную количественную оценку, так и эффективное воспроизводство вируса; иногда вирусы вызывают трансформацию нормальной клетки в клетку, имеющую свойства опухолевой. И все это удается продемонстрировать не в течение месяцев, а в течение нескольких дней!» (Хабел).

Прежде чем мы обратимся к рассмотрению поведения опухолевых ДНК-вирусов в культурах ткани, обсудим некоторые практические проблемы.

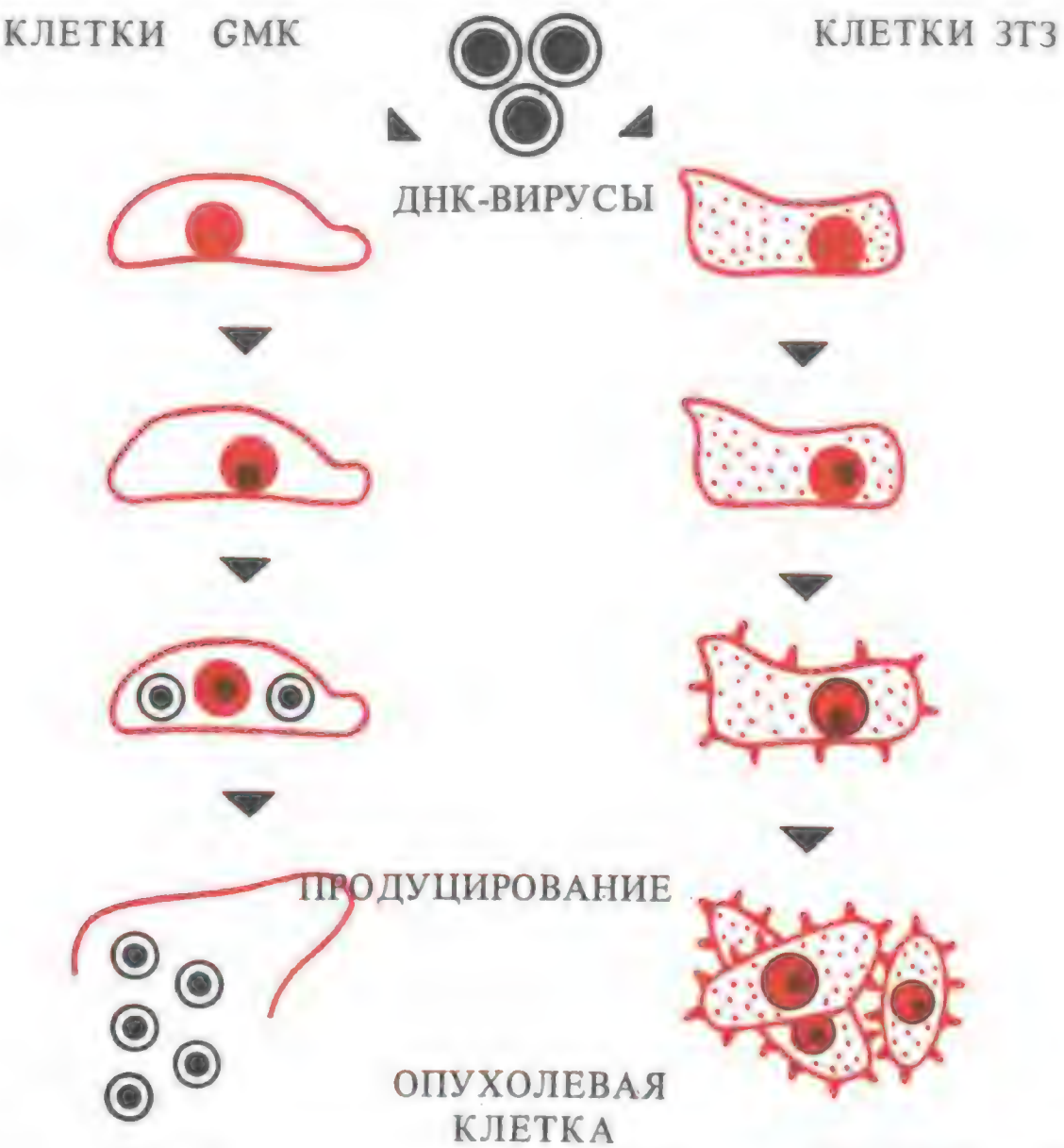
Подсчет живых вирусов с использованием теста с просветлениями

Вирусы можно подсчитывать непосредственно под электронным микроскопом, однако, поскольку при этом считают как мертвые вирусы, так и «пустые оболочки», выводы могут не соответствовать истине. Вот почему целесообразнее подсчитывать лишь активные частицы. С этой целью следует подобрать тип клеток, в которых хорошо размножается данный вирус (клетки почек обезьяны для вируса полиомиелита, клетки зародышей мыши для вируса полиомы), инокулировать эти клетки в чашки Петри и ждать образования плотного слоя клеток. Затем клетки инокулируют разведенным раствором вируса, дают возможность вирусу войти в клетки и покрывают культуру слоем агара. Описанный прием позволяет избежать беспрепятственной диффузии вирусных частиц, высвобождающихся из инфицированных клеток в результате лизиса. Поэтому вирусные частицы способны инфицировать только

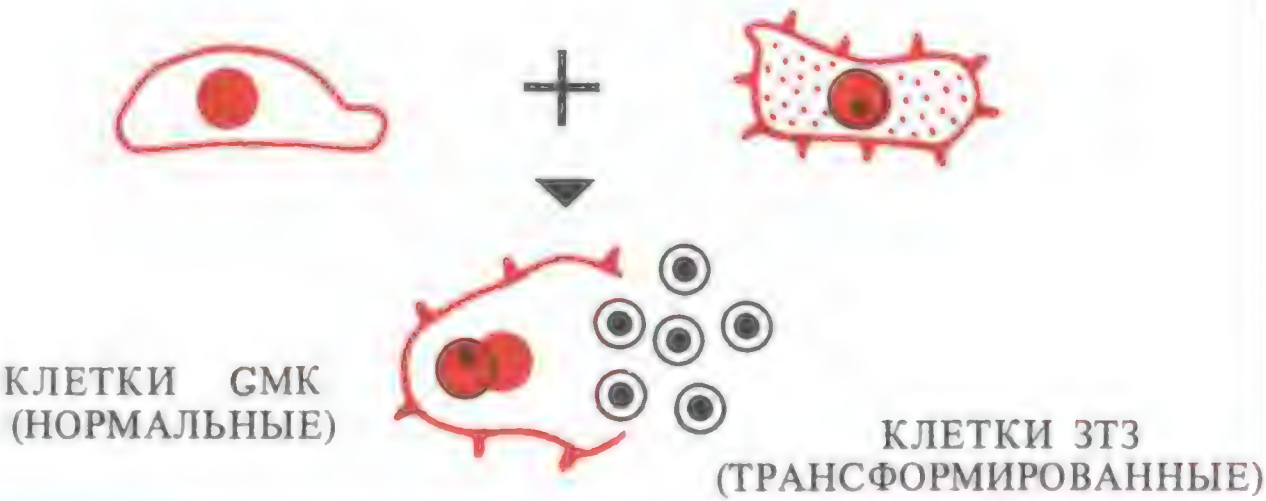


Ф и г. 39.

ПРОДУЦИРОВАНИЕ И ТРАНСФОРМАЦИЯ



ДЕМАСКИРОВАНИЕ ПОСЛЕ СЛИЯНИЯ



ОПУХОЛЕВЫЕ ДНК ВИРУСЫ В КЛЕТКАХ КЛЕТОК

Ф и г 40

клетки, находящиеся в непосредственном соседстве, и лишь в них размножаться. В результате отдельный вирус как бы «проедает» дырку (просветление) в слое клеток, видную невооруженным глазом. Если в растворе вируса имеется всего несколько *вирионов* (множественные или индивидуальные вирусные частицы), то несколько дырок, появляющихся на пластинке, не сольются в одну. В таком случае их легко подсчитать и тем самым произвести оценку числа активных вирусных частиц — «инфекционных единиц» (фиг. 39).

Описанный метод позволяет дать количественную оценку многих вирусов, проявляющих патогенность у животных: вирусов полиомиелита, аденовирусов, а также опухолевых вирусов.

Трансформация *in vitro*

Как правило, опухолевые вирусы могут не только «проедать» дырки в слое соответствующих клеток, но и нарушить строгий порядок в культуре ткани.

Многие клетки, выращиваемые в культуре ткани, подчиняются общему порядку: они делятся только до тех пор, пока есть место. Если образуется толстый слой клеток, деления прекращаются: тесные контакты между клетками предотвращают новые митозы (феномен «контактного торможения»).

Клетки, инфицированные опухолевыми вирусами, иногда отказываются подчиняться этим правилам: они продолжают расти, даже «наползая» на соседей и образуя неравномерные слои. Такие морфологические признаки уже сами по себе в какой-то степени напоминают небольшие опухоли. Более того, по существу доказано, что нагромождающиеся друг на друга клетки суть не что иное, как настоящие опухолевые клетки. Если их имплантировать подходящему реципиенту (животному того же инбредного штамма, от которого первоначально были взяты клетки для данной культуры), то у животного образуются настоящие опухоли.

Другими словами, «беспорядочно растущие клетки» под влиянием опухолевого вируса превращаются в опухолевые клетки (фиг. 40).

Признаки трансформированной клетки

1. Усиленный темп роста.
2. Возможность неограниченного пассирования в культуре ткани («постоянная линия»).
3. Утрата контактного торможения («нагромождения клеток» и «беспорядочный рост»).
4. Образование вирусспецифических антигенов.
5. Образование опухолей с иммунологической совместимостью.

Трансформация и гибель клетки

Трансформация и гибель клеток могут сопровождать друг друга: если клетки эмбриона мыши инфицировать вирусом полиомы, то, помимо просветлений в клеточном слое, можно наблюдать и характерные беспорядочные нагромождения клеток.

Но гибель клеток и трансформация — процессы столь различные, что напрашивается предположение о наличии двух различных типов вирусов. В таком случае вирусы, выделенные из участков отдельных просветлений, казалось бы, должны были вызывать только просветления, но не трансформацию.

Однако опыт показал обратное: трансформация и разрушение клеток сопровождали друг друга даже в тех случаях, когда вирионы были выделены из одного просветления. Следовательно, один и тот же вирус может вызывать как продуктивную инфекцию, так и трансформацию.

Клетки могут делать выбор между продуцированием вируса и трансформацией

Решение о том, примет ли клетка участие в продуцировании вирусов с последующим своим распадом или подвергнется трансформации и станет опухолевой, в значительной мере зависит от клетки-мишени. Известны линии клеток, которые преимущественно лизируются вирусом SV-40, и такие, которые преимущественно подвергаются трансформации (см. фиг. 40).

Играют роль не только наследственные свойства клетки, но и ее физиологическое состояние. Вирусной трансформа-

ции гораздо легче подвергаются растущие, делящиеся клетки, чем клетки покоящиеся (так называемые стационарные клетки). Вирусная ДНК, вероятно, легче встраивается в ДНК клетки в процессе ее репликации. Это означает, что важна не только линия клеток, но и *фаза* клеточного цикла.

Разумеется, клетки не вполне свободны в «принятии решения»: если обработать клетки избыточным количеством SV-40, который обычно вызывает лишь трансформацию (множественная инфекция), то может произойти «запрещенное» продуцирование вируса.

В одной клетке может быть произведено несколько тысяч вирусных частиц, а трансформированные клетки, наоборот, как бы вовсе не содержат вируса.

«Маскированные» вирусы

Собственно говоря, в том, что трансформированные клетки больше не содержат вируса, нет ничего удивительного. Этот факт согласуется с прежними данными о том, что в опухолях, индуцированных вирусами, вирус часто не удается наблюдать. (Так, быстро растущая папиллома Шоупа у домашних кроликов более не содержит вируса Шоупа.)

Здесь возможны два объяснения:

1. Вирусы действительно вызывают трансформацию, но сформировавшейся опухолевой клетке они больше не нужны. Следовательно, вирусы могут не только прятаться, но и в самом деле исчезать.

2. Но, как выяснилось, хотя вирусы и могут, по видимому, прятаться, они все же не теряются: они внедряются в клетку и живут в ней в «замаскированной» форме.

Классической моделью таких «маскированных» вирусов являются бактериофаги. Фаги — это вирусы, которые размножаются в бактериях и лизируют клетки бактерий. Однако размножение и лизис наступают не всегда. Иногда наблюдается так называемая «безмолвная инфекция»¹, при которой фаг проникает в клетку, но не разрушает ее. Потомство таких инфицированных бактериальных клеток кажется здоровым, однако они могут внезапно начать бурное продуцирование фаговых частиц и разрушаются.

¹В отечественной медицинской литературе принят термин «дремлющая инфекция». — *Прим. ред.*

Различные факторы определяют такой отсроченный взрыв: ультрафиолетовое облучение, рентгеновское облучение, перекиси, различные красители и канцерогены.

В латентно-инфицированных бактериальных клетках вирус не выявляется, однако после лизиса он внезапно вновь появляется в изобилии. В таких клетках он как бы впадал в спячку, но тем не менее принимал участие во всех клеточных делениях и, таким образом, вел себя подобно гену.

«Союз» бактерии и фага можно уподобить «браку», который в один прекрасный момент распадается под влиянием внешних воздействий: вирусный геном «принимает управление» и начинает заниматься исключительно размножением фага. Хозяин поставляет все сборочные конвейерные линии и энергию на службу фагу и в конце концов гибнет.

ДНК опухолевых вирусов отдаленно напоминает такие латентные фаги. Вирус полиомы и SV-40 также не исчезают полностью из трансформированных клеток. Даже в по всей видимости свободных от вируса опухолевых клетках имеются «свежие следы», свидетельствующие о присутствии вируса.

По следам «маскированных» вирусов: вирусспецифические антигены

Первые следы удалось обнаружить благодаря иммунологическим методам: в клетках, трансформированных вирусом, содержатся антигены, отсутствующие в нормальных клетках. Они различаются в зависимости от вируса, вызвавшего трансформацию. Так были обнаружены антигены, специфичные по отношению к вирусу полиомы или к SV-40

Вирусспецифические антигены были открыты в ядре трансформированных клеток и названы Т-антигенами (опухолевыми антигенами). У хомяков с опухолями, индуцированными вирусом полиомы, вырабатываются антитела против специфических по отношению к полиоме ядерных антигенов. Если их пометить флуоресцирующим красителем, то антигены можно будет наблюдать под микроскопом: клетки с Т-антигеном после инкубации с мечеными антителами характеризуются ярким флуоресцирующим ядром, тогда как клетки без антигенов остаются темными.

Т-антиген не является компонентом вируса, таким, как,

например, белок его оболочки. Функции его до сих пор не выяснены. Недавние исследования показали, что клетки опухолей, индуцированных вирусами, не всегда содержат Т-антигены. Следовательно, они не обязательны для трансформации.

Вирусспецифические антигены могут также локализоваться на клеточной мембране трансформированных клеток (антигены реакции отторжения при трансплантации — АРОТ). Они ответственны за отторжение пересаженных вирусных опухолей. Как мы видели в предыдущей главе, возможна выработка, правда ограниченного, иммунитета против пересаженных вирусных опухолей. Если попытаться вторично ввести ту же вирусную опухоль резистентному животному, то клетки пересаживаемой опухоли не привьются (при условии, что вводится не слишком много клеток).

Локализация таких трансплантационных антигенов на клеточной мембране хорошо изучена.

1. Общепринято, что трансплантационные антигены располагаются на поверхности клетки. Лишь в этом случае возможна прямая реакция между пересаженными клетками и клетками иммунной защиты.

2. Иммунные реакции могут быть вызваны не только интактными трансформированными клетками, но и их «тенями». «Тенями» клеток называют их оболочки с достаточно хорошей сохранностью поверхностных структур, получаемые при набухании клеток и их разрыве в гипотоническом солевом растворе.

Антигенные вещества самих вирусных частиц (белковые субъединицы) не идентичны АРОТ-антигенам. АРОТ-антигены вырабатываются трансформированной клеткой в соответствии с указаниями, исходящими от вирусного генома. Различные типы клеток вырабатывают одни и те же антигены при трансформации одним и тем же вирусом (см. стр. 167).

Помимо поверхностных антигенов, которые выявляются при трансплантации, имеются также антигены, которые удастся обнаружить непосредственно *in vitro* (проба на агглютинацию; антитела, меченные флуоресцеином). Такие антигены часто называют S-антигенами.

Рассмотрим теперь биологическое значение трансплантационных антигенов. Трансплантация и отторжение трансплантата являются искусственно созданной ситуацией, так

сказать, биологически исключительным случаем, возможным лишь в условиях эксперимента. И все же имеются достоверные указания на то, что вирусспецифические вещества типа трансплантационных антигенов играют определенную роль и в «нормальном» развитии вирусной опухоли.

Измененные антигенные структуры опухолевой клетки предупреждают систему иммунной защиты хозяина. Трансформированные клетки рассматриваются как «новые», «чужие», и механизмы защиты приводятся в действие. Под влиянием вируса часть собственных клеток организма становится «чужой», что находит отражение в следующем:

1. Клетки, ставшие чужими, выпадают из системы целостного организма: перестав подчиняться правилам «общества», они становятся опухолевыми.

2. Но именно из-за того, что клетки стали чужими, хозяин получает возможность отторгнуть их как чужеродный материал.

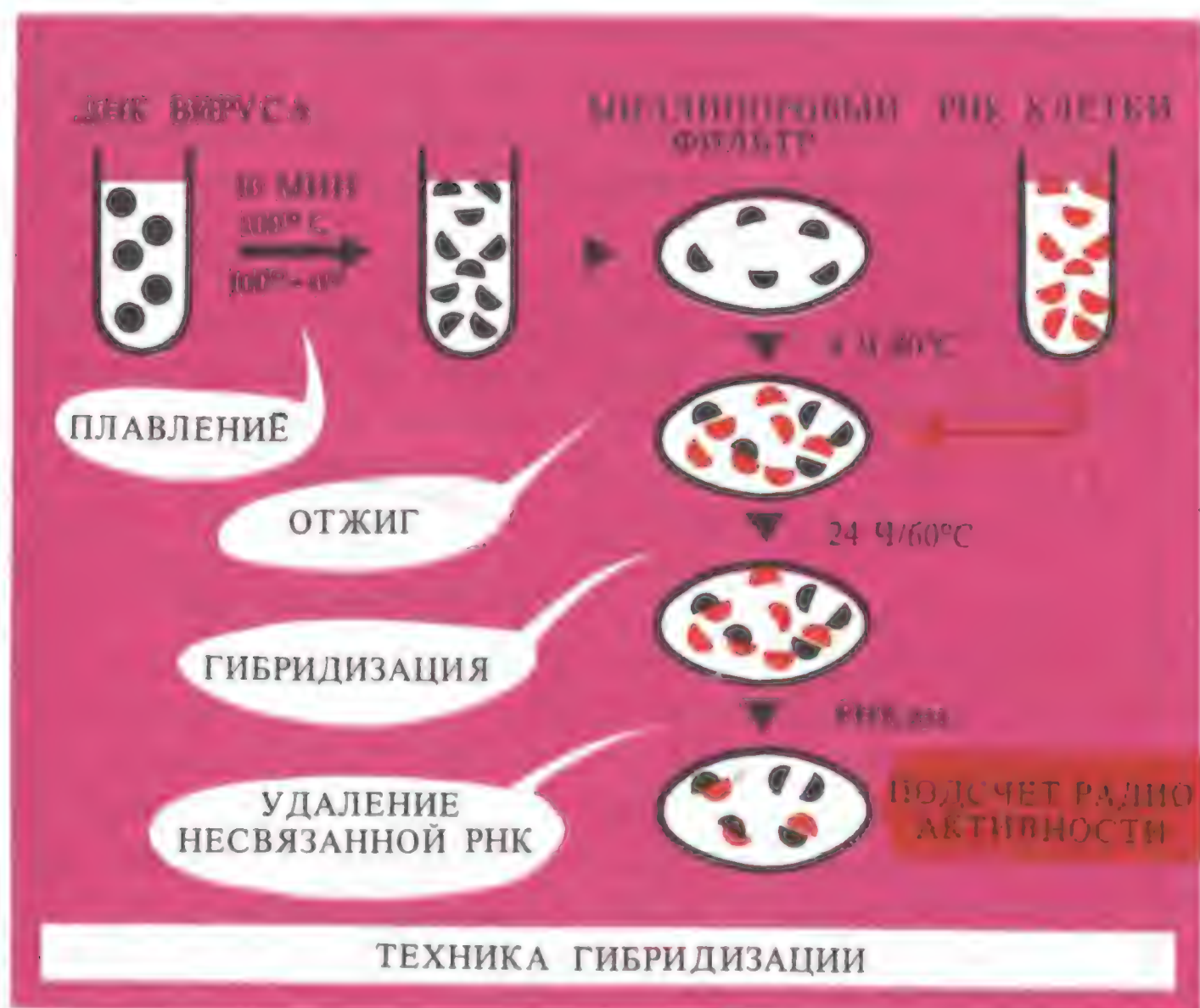
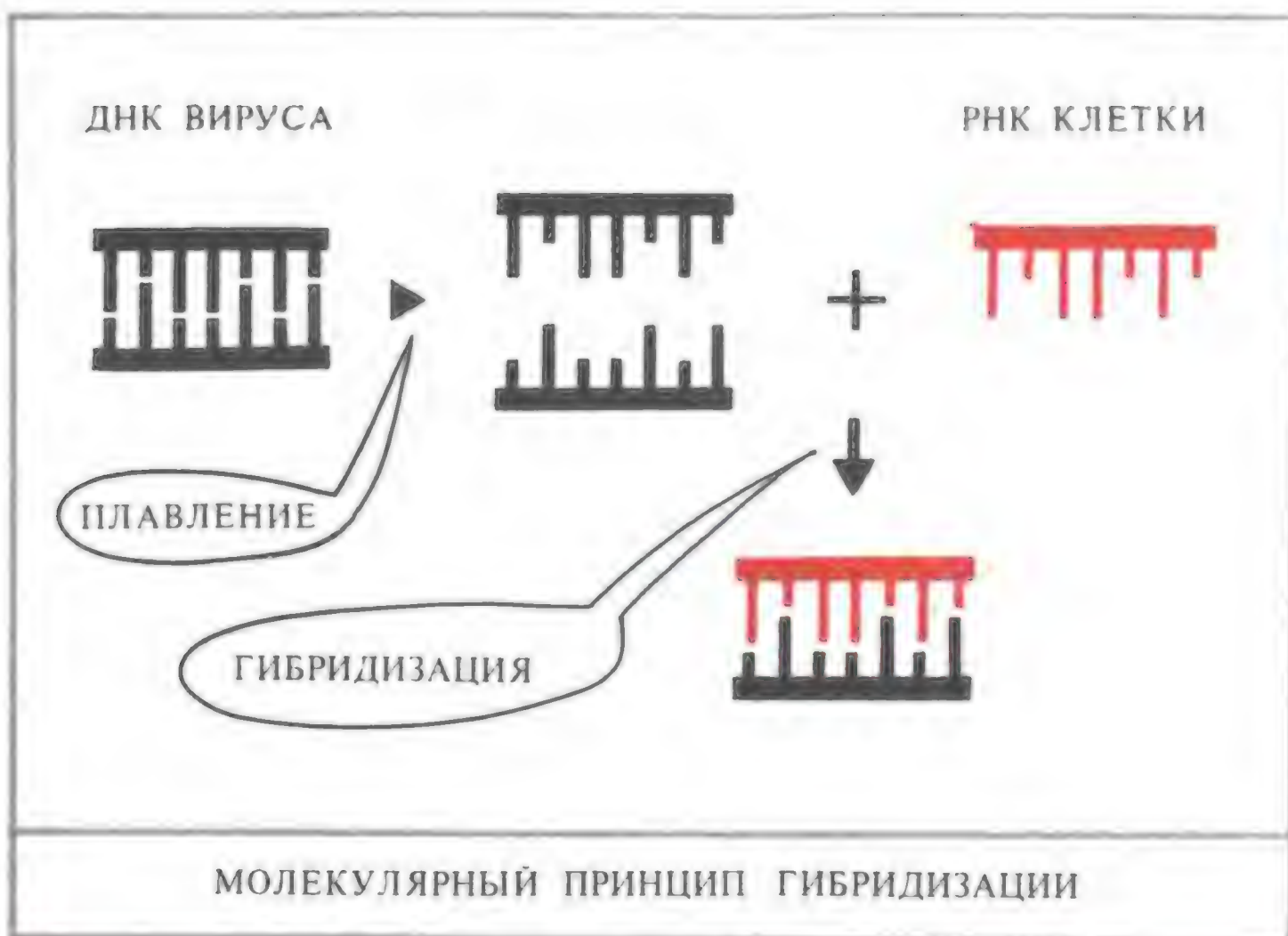
Согласно этой теории, S-антигены находятся в центре вирусного онкогенеза: чем больше клетки становятся чужими благодаря этим антигенам, тем легче им уклоняться от нормальных регуляторных сигналов. Однако это же обстоятельство ослабляет их позиции по отношению к системе иммунной защиты организма. Взаимосвязь очевидна, хотя и не имеет пока строгого экспериментального подтверждения.

Вирусспецифические антигены не являются единственными «отпечатками пальцев» опухолевых вирусов в трансформированных клетках. Особенно выдают присутствие вируса вирусспецифические рибонуклеиновые кислоты.

По следам «маскированных» опухолевых ДНК-вирусов: вирусспецифические рибонуклеиновые кислоты

Трансформированные опухолевые клетки вырабатывают вирусспецифическую информационную РНК. Выявление этой РНК осуществляется путем так называемой гибридизации ДНК с РНК. Здесь следует совершить небольшой экскурс в теорию, чтобы понять суть этого метода.

Информационная РНК получает генетическую информацию от ДНК, и последовательность нуклеотидов в ней определяется нуклеотидной последовательностью ДНК.

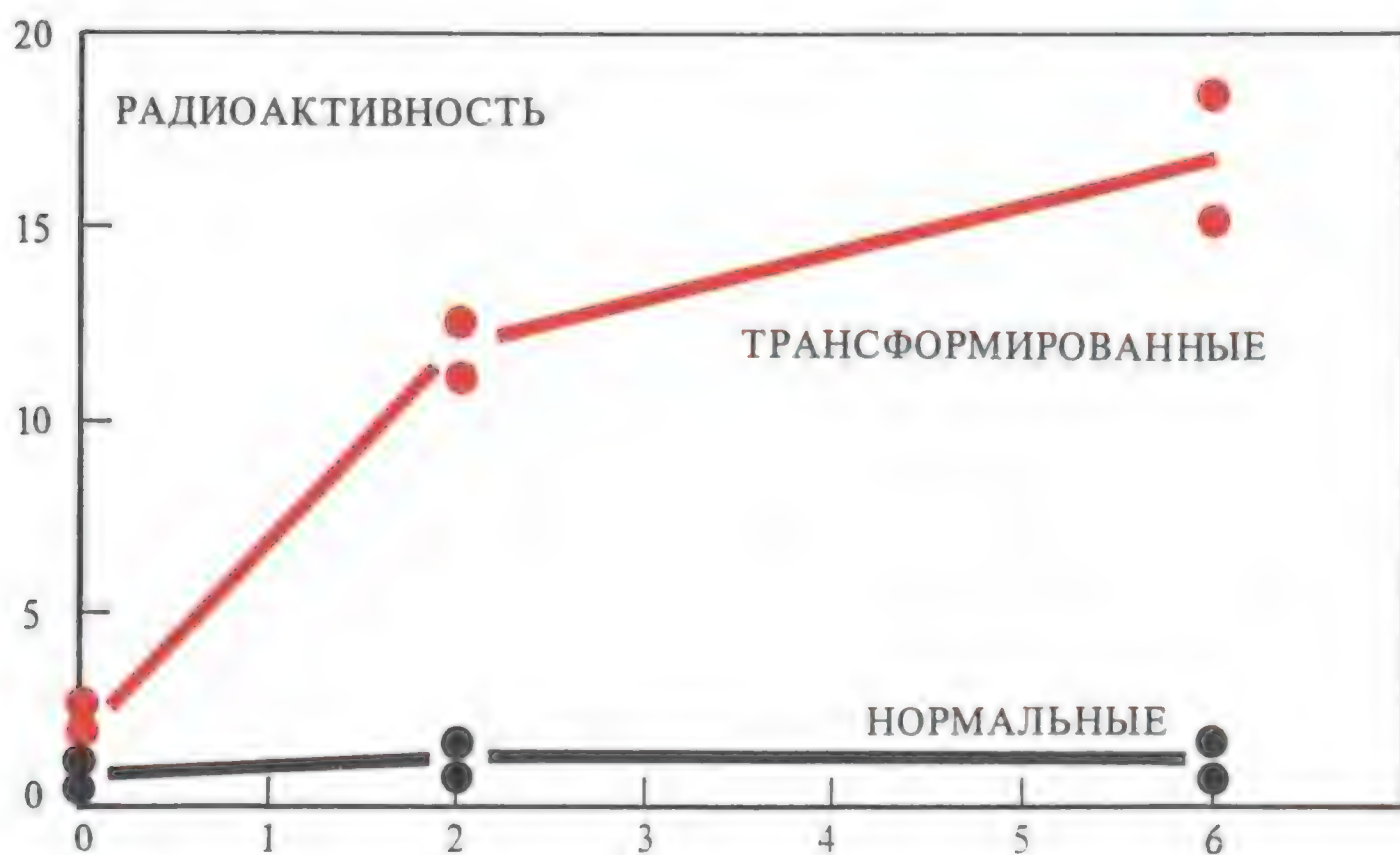


Ф и г. 41.

Следовательно, информационная РНК и ДНК комплементарны друг к другу. Правда, отдельная молекула информационной РНК представляет собой «слепок» лишь с короткого отрезка нуклеотидной цепочки ДНК. Если ДНК и информационную РНК от одной и той же клетки смешать друг с другом, то соответствующие нуклеотидные цепочки двух нуклеиновых кислот вновь объединятся попарно. Такие ДНК — РНК-комплексы могут быть разделены и количественно охарактеризованы. Если же ДНК смешать с информационной РНК из разных источников, то, как правило, будет наблюдаться лишь слабая ассоциация (фиг. 41).

Точно так же информация, заключенная в вирусной ДНК, прежде всего переписывается на молекулу РНК, и эта вирусспецифическая информационная РНК также может быть гибридизирована с вирусной ДНК. Итак, вирусспецифическая информационная РНК — это РНК, гибридизированная с вирусной ДНК.

В опытах по гибридизации вирусной ДНК с РНК из незараженных нормальных клеток спаривания не наблюдается. И наоборот, если выделить РНК из трансформированных клеток и гибридизировать ее с вирусной ДНК, то произойдет частичная гибридизация между РНК и ДНК. И хотя спариванию подлежит лишь очень небольшая часть общей РНК трансформированной клетки, ее связывание с



Ф и г. 42.

вирусной ДНК определяется с высокой степенью надежности (фиг. 42). Это означает, что вирусспецифическая РНК присутствует даже в трансформированных клетках, хотя сами вирионы в них и не выявляются.

Полученные новые сведения являются прямым указанием на присутствие вирусной ДНК, иначе откуда бы клетке взять информацию для синтеза этой РНК?

Вирусная ДНК сохраняется в трансформированных клетках

О наличии в трансформированных клетках вирусной ДНК свидетельствует не только выявление вирусспецифической информационной РНК; вирусная ДНК была обнаружена и прямыми методами.

Доказательства вновь основываются на методе соединения комплементарных ДНК и РНК. Для этого прежде всего необходимо получить вирусную информационную РНК, которая используется в качестве индикатора вирусной ДНК. Эту РНК можно выделить из смеси информационных РНК клетки и вируса, экстрагированных из информационных клеток.

Вестфаль выбрал более изящный путь: он синтезировал информационную РНК SV-40. С этой целью он использовал фермент, полимеризующий рибонуклеотиды до полинуклеотидов (РНК) в точном соответствии с так называемой «затравочной» ДНК (ДНК-зависимая РНК-полимераза). Последовательность нуклеотидов в такой синтетической РНК оказывается комплементарной последовательности нуклеотидов, используемой затравочной ДНК. Если же в качестве «затравки» взять вирусную ДНК, то можно получить вирусспецифическую РНК.

Такая синтетическая вирусная информационная РНК может быть связана с ДНК клетки, трансформированной опухолевыми вирусами; с ДНК нормальных клеток связывания не происходит. Из этого следует, что вирусная ДНК постоянно присутствует в трансформированной клетке. Таким образом, «маскированный» вирус не что иное, как «голая вирусная ДНК», или «ядро» вирусной частицы. По предварительным подсчетам имеется 10—50 вирусных копий на клетку. Все копии локализуются в ядре клетки. Если вспомнить о том, что трансформация происходит успешнее в те фазы клеточного цикла, когда осуществляется синтез

ДНК, то легко согласиться с предположением о том, что вирусная ДНК встраивается в ДНК клетки-хозяина. При каждом делении клетки вирусная ДНК делится вместе со всей ДНК клетки. В противном случае она должна была бы постепенно исчезнуть и ее нельзя было бы обнаружить.

В самом строгом смысле слова метод гибридизации нуклеиновых кислот доказывает лишь то, что по крайней мере часть вирусной ДНК сохраняется в трансформированной клетке. Новые методы позволяют сделать более широкие обобщения: доказано, что в трансформированной клетке сохраняется весь геном вируса SV-40.

Демаскировка опухолевого вируса:

слияние клеток вызывает продуцирование вируса

В последние годы удалось добиться слияния клеток млекопитающих (Эфрусси, Харрис). При этом образуются клетки, имеющие поначалу два или более ядра; через некоторое время формируется одно ядро, которое содержит хромосомы обеих родительских клеток.

В природе такое слияние клеток высших организмов является редкостью. Его возможно наблюдать лишь в особых случаях, когда «суперклетка», возникшая в результате слияния, имеет по сравнению с обычными родительскими клетками преимущество в отборе. Однако такого слияния можно добиться искусственным путем, обработав клетки вирусом Сендай. Этот вирус, названный в честь города в Японии и обычно вызывающий заболевание типа гриппа, способен вызывать также слияние клеток в культурах: по-видимому, он содержит «фактор слияния», который специфически воздействует на клеточные стенки. Слияние клеток может быть вызвано и «мертвым» (инактивированным ультрафиолетовым облучением) вирусом Сендай. В последнем случае устраняется необходимость в «остановке» продуцирования вируса после слияния клеток.

Используя описанный метод, Копровски сумел осуществить слияние целой серии трансформированных клеток (очевидно, без вируса) с нормальными клетками, в которых возможно продуцирование вируса. Продуцирование вируса начиналось в образованных таким образом многоядерных гибридах клеток. Нормальная «продуктивная» клетка превращает «маскированный» вирус трансформированной клетки в продуктивный вирус (см. фиг. 40).

В ходе проводимых экспериментов выяснилось, что:

1) в трансформированных клетках может сохраняться весь геном вируса, поскольку слияние клеток вызывает образование полных вирусных частиц;

2) по-видимому, в трансформированной клетке не происходит каких-то реакций, необходимых для продуцирования полных вирусных частиц. В трансформированной клетке нет синтеза белковой оболочки и соответственно массового производства вирусной ДНК. Поэтому, как можно полагать, трансформированная клетка (по крайней мере в этом отношении) держит вирус под контролем.

Вирусная ДНК ответственна за трансформацию

Как мы уже имели возможность убедиться, трансформированные клетки все же содержат вирусную ДНК. Известно простое доказательство того, что эта ДНК имеет решающее значение для трансформации. Впервые это доказательство было получено в опытах с полиомой (Стюарт).

Подобно многим другим, вирус полиомы можно разделить на нуклеиновую кислоту и белковую оболочку. Если очищенную фракцию нуклеиновой кислоты вируса добавить к культуре клеток хомяка, то клетки подвергнутся опухолевой трансформации точно так же, как если бы культура была обработана интактным вирусом полиомы. ДНК вируса полиомы проявляет канцерогенность и на целом животном. Из этого следует вполне однозначный вывод: трансформацию вызывает нуклеиновая кислота опухолевого вируса.

Таким образом, вирусологи, работающие с опухолями, подтверждают основной вывод многолетних вирусологических исследований: «Во всем следует винить нуклеиновые кислоты». В 1956 г. Шрамм и Гирер на примере вируса табачной мозаики (ВТМ) показали, что нуклеиновые кислоты «проедают» такие же дырки в листьях табака, как и интактный вирус, и что белковые экстракты из ВТМ не проявляют никакой активности. В последующие годы подобные «инфекционные нуклеиновые кислоты» были выделены из целого ряда вирусов. Если чувствительные клетки заразить такими инфекционными нуклеиновыми кислотами, то вновь воссоздаются полные вирусные частицы, как и при инфекции интактным вирусом.

Следовательно, нуклеиновые кислоты содержат всю необходимую информацию для размножения вируса в клетке. Вирусная ДНК и вирусный геном идентичны. Сердцевина вируса, состоящая из нуклеиновой кислоты, соответствует хромосомам высшего организма, и вирусные опухоли индуцируются генами вируса.

Опухолевый ДНК-вирус имеет лишь несколько генов

Одно из правил молекулярной генетики гласит: «Один ген — один фермент». То, что верно для бактерий и грибов, верно и для вирусов. Гены вирусов точно так же управляют синтезом ферментов и других белков, а именно: ферментов, которые ответственны за размножение вируса, в дополнение к ферментам, содержащимся в клетке-хозяине; белков, которые перестраивают метаболизм клетки, и, наконец, белков, которые изменяют свойства клеточных мембран.

Попробуем оценить, сколько генов содержится в ДНК полиомы или SV-40. Одиночная нить ДНК полиомы содержит около 5000 оснований, что может быть легко вычислено на основе молекулярного веса интактной ДНК. Из молекулярной генетики нам известно, что три нуклеотида определяют одну аминокислоту. Следовательно, вся ДНК полиомы или SV-40 может кодировать примерно 1700 аминокислот. Для синтеза белка оболочки вируса достаточно примерно одной четвертой части этого количества. Остатка может хватить на синтез 4—8 небольших белковых молекул. Таким образом, максимальное число генетических факторов, которые полиома может принести в клетку, вряд ли превысит 5—10.

«Поскольку число вирусных генов невелико, может оказаться возможным идентифицировать гены, ответственные за индукцию рака, и выяснить, как они функционируют в зараженных клетках» (Дульбекко). Но прежде всего перечислим известные функции и процессы, «специфичные для вируса» и происходящие при заражении клетки вирусом.

На какие гены падает подозрение в трансформации?

1. После заражения вирусом синтез ДНК «дремлющих» клеток возрастает. Усиливается также синтез ферментов, необходимых для репликации ДНК. Синтез клеточной ДНК в «дремлющей» клетке в норме остановлен. Однако вирусы,

по-видимому, способны снимать это торможение, по крайней мере частично. Таким образом, не исключено, что эта функция вируса имеет немаловажное значение в канцерогенезе.

2. Трансформированные клетки имеют «новые» поверхностные антигены, которые выявляются при пересадке этих опухолевых клеток, а также в опытах *in vitro*. Как полагают, эти антигены кодируются вирусом, а не клеткой (см. стр. 206).

3. Помимо трансплантационных антигенов, ядра инфицированных клеток имеют другой вируспецифический антиген, который также не идентичен компонентам вирусной частицы. Однако его можно исключить из числа факторов, участвующих в канцерогенезе, поскольку известны некоторые опухолевые клетки, не содержащие Т-антигенов.

4. Наиболее характерным признаком вируса является его внешняя структура — белковая оболочка. Но в трансформированных клетках белок оболочки не синтезируется. Таким образом, эти белки, по-видимому, не обязательны для трансформации клеток. Соответствующий ген вируса также нельзя считать «индуцирующим опухоль».

Можно было бы добавить еще несколько функций, однако их рассмотрение выходит за рамки нашей книги. Вместе с тем приведенный выше перечень показывает, что большая часть возможных вирусных генов уже открыта. Круг «подозреваемых» генов не только мал, но и в основном известен.

Наибольшее подозрение вызывают те функции вируса, которые могут индуцировать синтез ДНК (см. п. 1 выше). Но и поверхностные антигены (см. п. 2), определяемые как трансплантационные, вызывают не меньшее подозрение, поскольку именно они делают клетку «чужой».

Все же одних подозрений недостаточно, и для вынесения окончательного «приговора» необходимо провести следующие эксперименты: вызвать мутации в отдельных генах вирусного генома; последовательно блокировать все функции вируса с целью выявления той из них, при блокировании которой вирус теряет свою онкогенность. Проведение перечисленных опытов позволило бы установить, какие именно функции вируса способствуют трансформации клетки.

На первый взгляд опыты не представляют трудностей, однако краткий перечень лишь нескольких генов вируса

полиомы вовсе не означает, что генетический анализ будет легким. Вещества, закодированные в отдельных генах, могут вступать в сложные взаимодействия друг с другом и тем самым — несмотря на незначительное число «примитивных» генов — вызывать большое разнообразие фенотипических проявлений.

Судя по всему, геном вируса сам по себе не может кодировать все известные «вируспецифические продукты», поскольку недавно было обнаружено, что вирус SV не обладает собственным белком оболочки.

По-видимому, происходит взаимодействие между клеткой и вирусными продуктами; и здесь немногочисленные функции вируса влекут за собой множество изменений, каждое из которых может быть вируспецифическим. В этой связи представляется целесообразным вновь вернуться к рассмотрению роли клетки в процессе трансформации.

Еще раз о роли клетки

Оба компонента системы вирус — клетка играют важную роль. Один и тот же вирус папилломы Шоупа индуцирует быстро растущие злокачественные опухоли у домашних кроликов и медленно растущие доброкачественные папилломы у диких кроликов. У очень молодых животных вирус полиомы может вызвать разрушение клеток без образования опухоли. Роль клетки наиболее выражена на примере нескольких чистых линий клеток, выращиваемых в культуре ткани: клетки хомяка линии ВНК и клетки мыши 3Т3 могут подвергаться трансформации вирусом SV-40 без заметного продуцирования вируса. И наоборот, продуцирование вируса — почти единственный процесс, который отмечается при инфицировании других линий клеток.

Следовательно, клетка в значительной мере может определять тип и размеры инфекции. Именно от нее зависит дальнейший ход событий — образуется ли опухолевая клетка, или произойдет продуцирование вируса. Клетка, находящаяся на пути к трансформации, вероятно, способна подавлять мультипликацию ДНК опухолевого вируса.

Контроль, осуществляемый клеткой, носит радикальный характер: клетка запрещает считывание информации с вирусной ДНК на информационную РНК. Таким образом,

контроль осуществляется на уровне транскрипции¹. В опытах по гибридизации было показано, что в трансформированных клетках считывается меньше вирусной информации, чем в продуктивных клетках. Следовательно, можно сделать вывод, что на уровне транскрипции (ДНК — информационная РНК) решается, в каком направлении будут развиваться события — по пути трансформации или по пути размножения вируса. Не так давно это подвергалось сомнениям, и некоторые специалисты считали, что контроль осуществляется на уровне трансляции (РНК → белок) (см. стр. 238).

Итак, клетка несет ответственность как за размножение вируса, так и за собственную гибель. А может ли она отвечать за трансформацию?

Предположим, что каждая клетка имеет потенциальную способность делиться. «Все живое стремится расти и размножаться» (Сент-Дьёрди). Для этого, как полагает Буллоу, не требуется дополнительного стимула, нужна лишь благоприятная возможность: «возможность делиться и есть причина митозов». Это, безусловно, верно для одноклеточных организмов, но и клетки высших организмов, по видимому, еще не совсем «забыли» о своем первобытном состоянии неконтролируемого роста.

Согласно этой концепции, опухолевому вирусу достаточно лишь «спустить курок», чтобы клетка «свернула в сторону». Итак, вирус просто дает толчок, все остальное клетка выполняет сама. Иными словами, функции и свойства, вызванные опухолевым вирусом, имеют лишь косвенное отношение к неопластическим свойствам клетки, а то и вовсе с ними не связаны.

Мысль о том, что вирус сам в состоянии направить клетку на путь неопластического роста, по понятным причинам более увлекательна. В этом случае изменения, вызванные вирусом, должны непосредственно (в большей или меньшей степени) вести к трансформации. В настоящее время мы не располагаем данными, позволяющими нам утверждать, что вирус на это не способен. Но в таком случае решение проблемы рака можно ожидать в обозримом будущем: дело лишь за тщательной проверкой всех генетических функций опухолевого вируса.

¹Транскрипция — переписывание генетической информации с ДНК на РНК. — *Прим. перев.*

Взгляд со стороны на опухолевые РНК-вирусы

В отличие от рассмотренных выше опухолевых ДНК-вирусов опухолевые РНК-вирусы способны размножаться в инфицированных клетках, не убивая хозяина. Более того, клетки, которые подверглись трансформации под воздействием опухолевых РНК-вирусов, также сохраняют возможность продуцировать вирусы. К этому классу принадлежат вирусы саркомы Рауса и вирусы лейкозов.

В опухолевых клетках, индуцированных опухолевыми РНК-вирусами, изменены и мембраны: в таких клетках также обнаруживаются трансплантационные антигены. Это значит, что опухолевые РНК-вирусы, как и опухолевые ДНК-вирусы, делают нормальные клетки «чужими».

Некоторые опухолевые РНК-вирусы не могут обходиться без так называемых «вспомогательных вирусов»: размножение опухолевых вирусов возможно лишь при наличии вспомогательных вирусов, так как только они образуют оболочки, в которые затем попадают «подлинные» опухолевые вирусы.

Опухолевые РНК-вирусы не раз преподносили сюрпризы исследователям. Так, в 1964 г. Темин постулировал, что они создают специфическую ДНК в соответствии с последовательностью оснований в своей РНК, — процесс, обратный тому, с чем мы сталкиваемся во всех других клетках и вирусах.

Если принять гипотезу Темина за основу, легче объяснить, почему клетки, трансформированные опухолевыми РНК-вирусами, остаются трансформированными и передают трансформацию дочерним клеткам и почему синтез ДНК является предпосылкой трансформации, происходящей после инфицирования вирусом.

Если это предположение справедливо, то опухолевые РНК-вирусы должны кодировать фермент, который полимеризует нити ДНК на матрице вирусной РНК. И такая полимераза была действительно открыта (Темин, Балтимор, Спигелмен) — ее удалось продемонстрировать в препаратах очищенных вирусов. Как оказалось, она способна образовывать двойные нити ДНК — РНК. По-видимому, не вся информация должна исходить от ДНК.

Продуцирование уникального фермента РНК-вирусами может иметь важные теоретические и практические последствия, и это обстоятельство не ускользнуло от внимания

биохимиков. Среди прочих нельзя не отметить возможность использования фермента в качестве «отпечатка пальцев» «маскированных» РНК-вирусов. Располагая данными иммунологических экспериментов в качестве косвенного подтверждения, Хюбнер с соавторами предположил, что саркомы и лейкозы человека могут вызываться «маскированными» РНК-вирусами (С-частицы). Открытие РНК-зависимой ДНК-полимеразы открывает перед учеными две возможности:

1. Появляется надежда на выявление маскированного РНК-вируса в опухолях человека.

2. Если некоторые опухоли человека действительно вызываются РНК-вирусами, то проба на этот фермент может быть использована для раннего обнаружения рака.

Через полгода после Темина Галло сообщил, что ему и его коллегам удалось продемонстрировать этот фермент в клетках крови при остром лимфобластическом лейкозе человека. Исследователи также показали, что в лимфоцитах здоровых людей его нет даже в тех случаях, когда эти клетки заставляли синтезировать ДНК.

Тем временем группа Спигелмена (Колумбийский университет, США) предприняла попытку установить повсеместное наличие обратной транскриптазы в опухолевых РНК-вирусах. К августу 1971 г. этот фермент был обнаружен почти у 30 РНК-вирусов, способных вызывать злокачественные опухоли у животных.

Итак, опухолевые РНК-вирусы, видимо, имеют много общего с онкогенными ДНК-вирусами, а «взгляд со стороны» на эти вирусы по существу оказывается всего лишь «взглядом сзади» на опухолевые ДНК-вирусы.

Заключение

Опухолевые ДНК-вирусы иногда ведут двойную жизнь. В клеточных культурах они могут или убивать (цитопатический эффект) или трансформировать клетки. В последнем случае непосредственно возникают неопластические клетки, которые растут поверх соседних клеток вопреки правилу контактного торможения. При трансплантации их подходящим животным возникают опухоли. Инфицированные клетки могут влиять на выбор между продуцированием вируса и клеточной трансформацией.

В опухолях, индуцированных вирусом, и трансформированных клетках вирусы могут «исчезать». «Маскированные» опухолевые вирусы обнаруживаются с помощью вирусспецифических антигенов и вирусспецифической информационной РНК. Так удастся выявлять вирусную ДНК в трансформированных клетках.

Опухолевый ДНК-вирус (например, полиома) имеет лишь несколько генов (менее 10). Точный генетический анализ может помочь в выяснении этапов, необходимых для трансформации. Для вирусолога, работающего в онкологии, проблема канцерогенеза превращается «из проблемы генетики клетки в проблему генетики вируса. Такой подход означает упрощение проблемы на несколько порядков величин» (Дульбекко).

Согласно теории Вирхова, патология клетки лежит в основе любой болезни: клетки, носители жизни, также подвержены заболеваниям. Исследователь, желающий изучить болезнь, в первую очередь должен изучить клетки.

Но современная патология на этом не остановилась. Клетки Вирхова оказались невероятно сложными структурами с собственными регуляторными органами, энергетическими системами и синтетическими «конвейерами». Клеточные компоненты сами по себе весьма сложные структуры, состоящие из многочисленных молекул самых разных типов.

Поэтому вполне логично, что ученые в области молекулярной патологии больных клеток обратились к «больным молекулам» (Полинг). «Больными» можно считать такие молекулы, которые из-за определенных ошибок в строении теряют способность выполнять предписанную им работу в клетке и в целом организме.

Классическим примером служат молекулы гемоглобина, выполняющие роль переносчиков кислорода. Замена всего лишь одной аминокислоты в пептидной цепи гемоглобина «ошибочной» аминокислотой может привести к образованию молекулы гемоглобина с совершенно иными свойствами. Сошлемся на пример серповидной анемии: в этом случае даже простое морфологическое изучение эритроцитов позволяет судить о наличии «дефектных» молекул гемоглобина. На основе тщательного химического анализа было установлено, что в пептидной цепочке гемоглобина серповидных клеток происходит лишь замена аминокислоты валина глютаминовой кислотой.

Часто важные молекулы не просто изменяются, но и могут почти полностью исчезать. В таких случаях термин «больная молекула», вероятно, неприменим. Имеются многочисленные примеры подобной молекулярной патологии: диабет (нехватка инсулина), аглобулинемия (отсутствие

глобулинов), фенилкетонурия (отсутствие ферментов катаболизма фенилаланина) и др. Однако за «отсутствующими» молекулами вновь стоят «больные» молекулы: аномальные ферменты или подвергшаяся мутации ДНК. При обсуждении проблемы рака нередко обращаются к гипотезе «больных» молекул. Но какие же молекулы в этом случае оказываются больными?

Как правило, из раковых клеток образуются дочерние клетки, которые в свою очередь оказываются раковыми. Такую «генетическую память» опухолевой клетки легче всего понять, если допустить, что происходит изменение генетического материала. Но генетический материал — это хромосомы, это ДНК. Следовательно, на вопрос о том, какие молекулы являются больными в раковой клетке, мы должны ответить: «ДНК». Но здесь, пожалуй, лучше говорить не о «больной» молекуле, а о молекуле «несдержанной» (Е. Боймлер). Такая характеристика превосходно отражает положение дел: безудержное деление можно понимать как передачу дочерним клеткам «стремления к свободе», поскольку «несдержанная» молекула представляет собой по существу генетический материал.

Гипотезе о том, что хромосомы имеют непосредственное отношение к раку, почти столько же лет, сколько и самой истории открытия хромосом. Еще в 90-х годах прошлого столетия были описаны изменения в хромосомах и аномалии митозов в опухолевых клетках, а также нерегулярность клеточных делений. Теодор Бовери (1862—1915), биолог из Вюрцбурга, в начале нынешнего века сформулировал *хромосомную теорию злокачественных опухолей*, в которой суммировал собственные наблюдения: число хромосом в опухолевых клетках отличается от нормального.

Изменения хромосом в опухолевых клетках: филадельфийская хромосома

Неоднократно указывалось, что число хромосом в опухолевых клетках отличается от нормы. (Обнаруживались диплоидные и тетраплоидные клетки, клетки с большей ploидностью¹, а также клетки, в хромосомных наборах

¹Плоидность характеризует число хромосомных наборов в ядре клетки. Так, в ядрах половых клеток имеется одинарный набор хромосом, а в ядрах нормальных соматических клеток обычно содержится двойной хромосомный набор, и такие клетки называются диплоидными. — Прим. перев.

которых отсутствовали или были лишними несколько хромосом.) Как оказалось, большинство экспериментальных опухолей состоит из смешанных клеточных популяций с различными хромосомными наборами, хотя в них подчас и преобладали определенные хромосомные группировки («стволовая линия»).

В опухолях могут также обнаруживаться морфологически измененные хромосомы. Подобные маркерные хромосомы иногда облегчают обнаружение и диагностику некоторых опухолей. Наиболее известным примером является так называемая филадельфийская хромосома. Она была обнаружена у больных с хроническим миелоидным лейкозом в клетках костного мозга и периферической крови. Хромосома получила свое название по имени города, где была открыта.

Но филадельфийская хромосома — исключение. Обычно количественные и качественные отклонения от нормы варьируют от опухоли к опухоли, от лейкоза к лейкозу. Поскольку даже клетки одной и той же опухоли могут отличаться по своему хромосомному набору, цитогенетика (наука, изучающая генетический материал отдельной клетки) имеет лишь ограниченную практическую ценность в диагностике опухолей.

Правда, неоднократно выражались сомнения в том, что измененные хромосомные наборы в опухолевых клетках имеют какое-либо отношение к особым свойствам этих клеток. Легко себе представить, что в клетках, которые выходят из митоза быстрее, чем нормальные, возможны повторяющиеся нарушения в расхождении отдельных пар хромосом. Иными словами, поспешные деления с большей или меньшей вероятностью ведут к аномальному распределению хромосом. Тем самым хромосомные аномалии могут быть лишь следствием канцерогенеза, а не его предпосылкой.

Но если это так, то должны быть и опухоли с полностью нормальными хромосомными наборами. Подобные эуплоидные опухоли действительно были обнаружены в серии так называемых гепатом с минимальным отклонением. При использовании обычных методов цитогенетики в особенно медленно растущих гепатомах этой серии не наблюдалось отклонений от нормы. В этом вряд ли есть что-либо новое или удивительное. Судя по всему, в опухолях человека нормальные хромосомные наборы являются правилом.

Разумеется, нельзя исключать возможность того, что в хромосомах происходят субмикроскопические изменения и что эти невидимые мутации играют решающую роль в определении неопластических свойств опухолевой клетки. Цитогенетики уже давно ведут поиски именно таких «невидимых» изменений хромосом.

Наследственные факторы в индуцировании опухоли: штаммы животных с гарантированной заболеваемостью опухолями

Мод Слай предложила простую рабочую гипотезу: если есть один или несколько опухолевых генов, то возможно путем селекции ввести этот ген животным или вывести его обратно.

В принципе не составляет большого труда закрепить в потомстве определенные свойства, скажем тот или иной цвет шерсти. Если в смешанной популяции встречается животное, обладающее нужным свойством, то можно в конечном итоге вывести и животное, чье потомство целиком будет носителем этого признака. То же можно сказать и о селекции штаммов с высокой заболеваемостью опухолями: необходимо лишь скрещивать животных — носителей данной опухоли. Однако при селекции чистых опухолевых линий ученые встречаются с известными трудностями. Легко увидеть, какого цвета шерсть мыши — серого или белого; в случае же селекции опухолей приходится ждать, часто на протяжении всей жизни мыши, появления опухолей, и лишь тогда выясняется, какое скрещивание оказалось эффективным. А тем временем следует сохранять все полученное потомство, пока не выяснится, каких именно животных предстоит скрещивать дальше.

Среди более чем 200 000 мышей своего «мышинного дома» Мод Слай могла наблюдать практически все опухоли, описанные в патологии человека. Многие из выведенных ею штаммов достигали 100%-ной заболеваемости лейкозом, раком легкого, молочной железы и другими формами злокачественных опухолей. У всех этих животных по достижении определенного возраста опухоли образовывались спонтанно, без вмешательства извне. Тем самым было доказано, что рак может наследоваться. Однако существование гена рака, в который верила Слай, с течением времени стало подвергаться все большему сомнению. Сегодня ге-

нетики опухолей сходятся на том, что индуцирование рака зависит не от одного, а от целого ряда факторов. Достаточно вспомнить фактор Биттнера и рак молочной железы у мышей. Здесь играют роль как вирус, так и генетическая конституция. Но что в данном случае подразумевается под генетической конституцией? Могут подразумеваться определенные свойства поверхности клетки, которые облегчают прохождение вируса. Может также подразумеваться и достаточно высокий уровень эстрогенов, а под этим в свою очередь имеют в виду связь между синтезом женских половых гормонов в фолликулах яичников и их распадом в печени. Но, разумеется, описание генетической конституции этим не ограничивается. Чем больше мы узнаем, тем больше факторов имеем возможность принять во внимание. Сегодня же, безусловно, необходимо учитывать генетическую детерминацию иммунного ответа.

Мы можем также рассматривать рецессивно наследуемое заболевание, такое, как *Xeroderma pigmentosum*. При этом заболевании наследуется повышенная чувствительность кожи к свету. В течение первых нескольких лет жизни на участках кожи, подвергаемых действию света, появляются воспаления, затем развиваются бородавчатые образования и, наконец, карциномы. Этот рак, вероятно, можно рассматривать как прототип наследуемого рака, хотя по существу наследуется лишь повышенная чувствительность к свету, а не рак как таковой.

Однако, если заглянуть глубже, речь идет обо всех наследуемых свойствах, а не о конкретных генетически определяемых заболеваниях. Передаются лишь тенденции, но не окончательные свойства. Иногда могут иметь место простые взаимоотношения между генотипом и фенотипом, однако, как правило, сложное взаимодействие многочисленных генов — необходимое условие для формирования сложных структур, таких, как тот или иной орган или, скажем, крыло. Поэтому нас не должно удивлять, что рак не наследуется непосредственно, а наследуется лишь определенная конституция, при которой возможно возникновение рака.

Связи между геном и опухолью отнюдь не всегда покрыты завесой тайны. При скрещивании близкородственных видов возможен относительно простой анализ развития опухолей.

Индукция опухолей при скрещивании видов: гибриды-опухоленосители

Как у животных, так и у растений можно найти многочисленные примеры развития опухолей в результате определенного скрещивания видов. Скрещивание видов у кочанной капусты (*Brassica*) ведет к появлению гибридов с предрасположенностью к опухолям, индуцируемым почвенными бактериями. Гибриды-опухоленосители могут быть также получены у дурмана, львиного зева, каланхоэ, томатов, ячменя и других растений. Среди опухолей растений наиболее известны опухоли у гибридов табака. Если *Nicotiana glauca* скрестить с *Nicotiana langsdorffii*, то опухоли развиваются у F₁-гибридов на корнях и побегах (см. стр. 289).

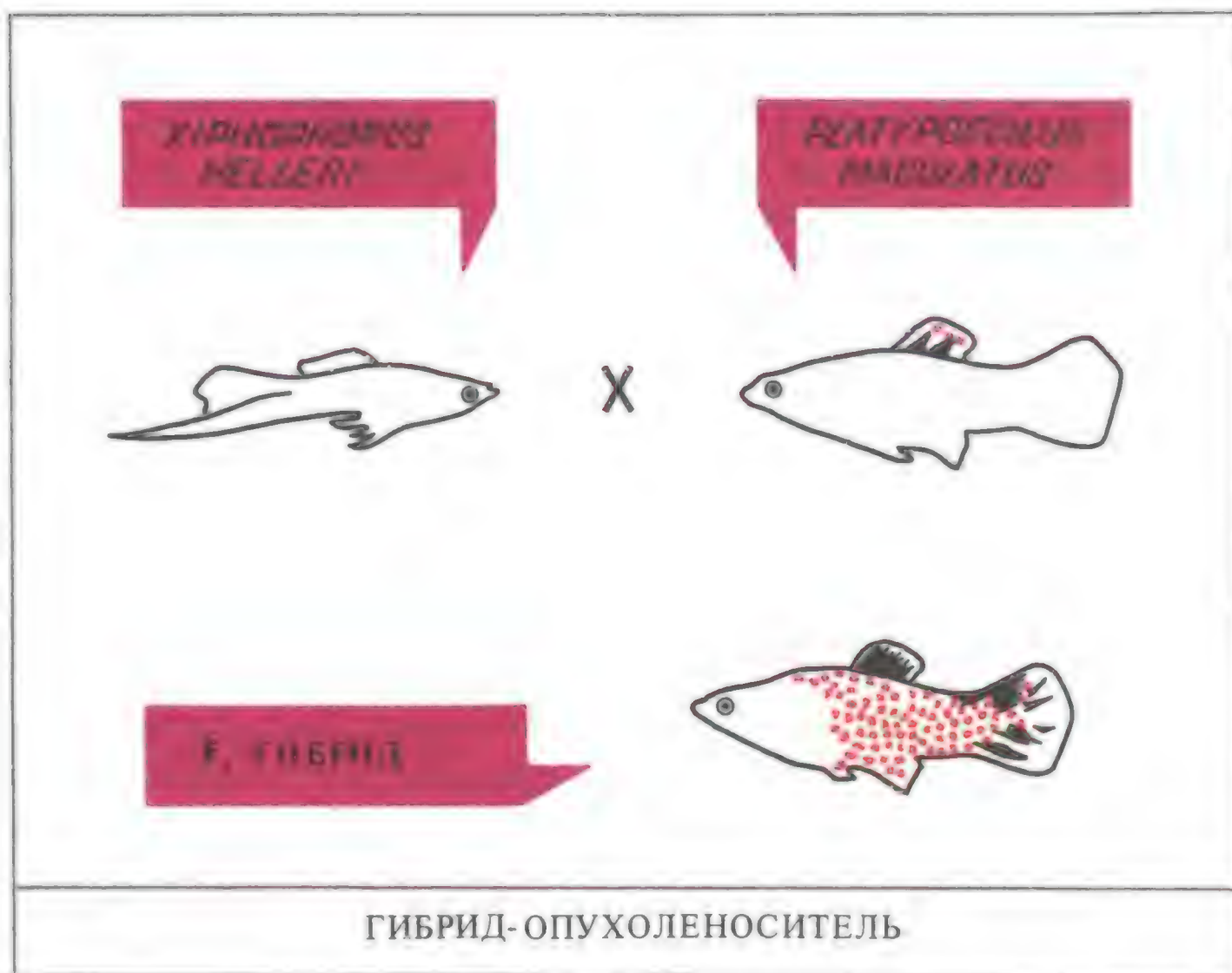
Нередки опухоли и при скрещивании животных. Такие случаи известны среди гибридов уток, кур, мышей, бабочек и серых лошадей. Наиболее тщательные исследования были проведены на гибридах рыб-меченосцев, в частности, по образованию меланом (Гордон, Андерс).

В первом поколении скрещивание между пецилией *Platyroecilus maculatus* и меченосцем *Xiphophorus helleri* (оба вида происходят из Центральной Америки) ведет к увеличению черных, содержащих меланин пятен на спинном плавнике. Расширяются также участки, покрытые красноватыми точками и находящиеся по соседству с черными пятнами (фиг. 43).

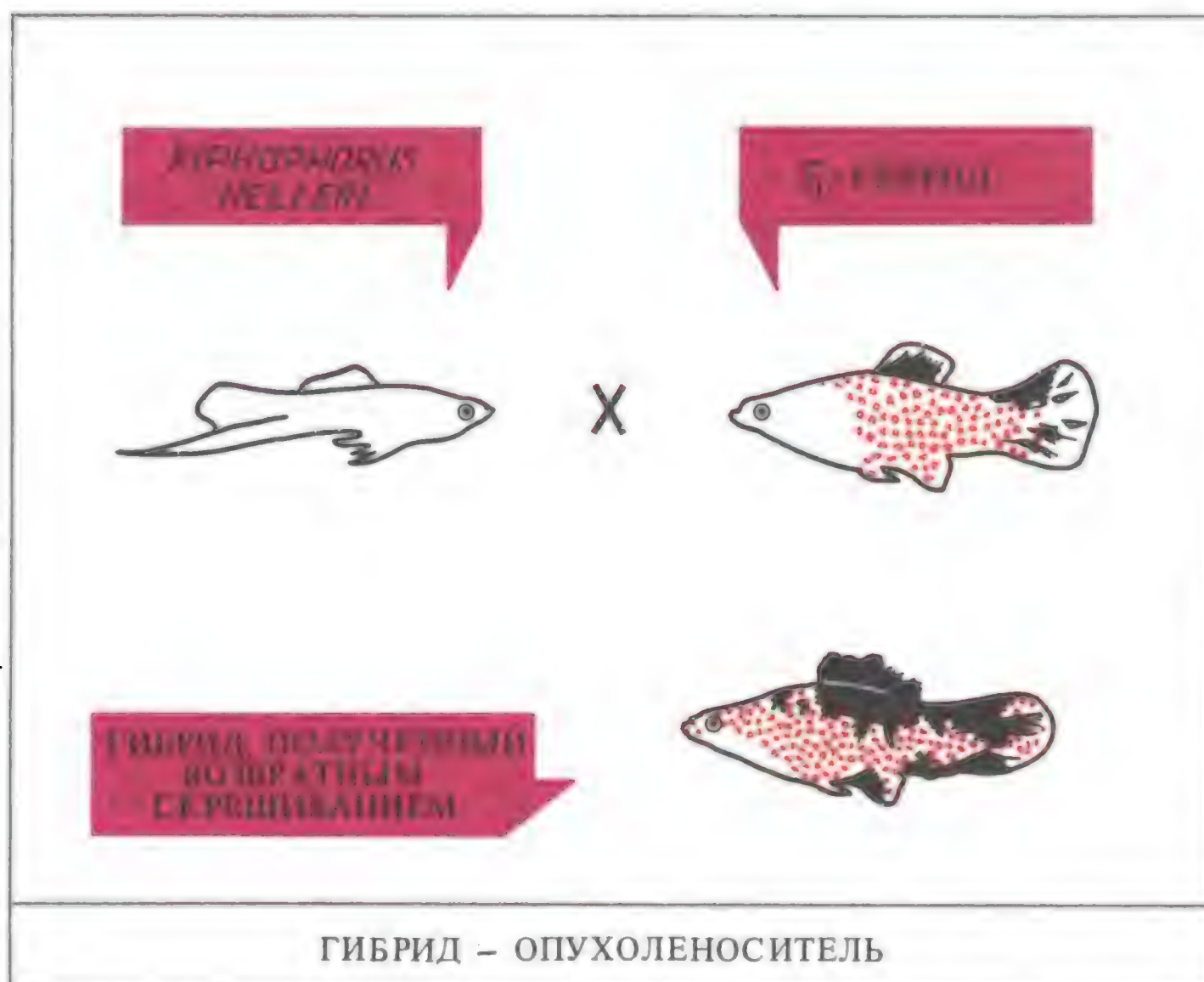
Если такой гибрид вновь скрестить с меченосцем *Xiphophorus*, не имеющим пятен, то получаются гибриды с обширными пятнами меланина, которые становятся заметными уже вскоре после рождения. Кроме того, почти все тело рыб оказывается красным. В течение нескольких недель из пятен развиваются меланомы, и рыбы гибнут (фиг. 44).

И хотя такие меланомы возникают исключительно в результате генетических изменений, их все же следует считать истинными опухолями, поскольку: 1) они трансплантируются; 2) могут расти инвазивно; 3) метастазируют при некоторых комбинациях генов; 4) в них наблюдается аэробный гликолиз.

Казалось бы, в данном случае имеет место несбалансированное равновесие: генетический материал ни одного из родителей не в состоянии держать меланофоры (пиг-



Ф и г. 43.



Ф и г. 44.

ментные клетки) гибридов под контролем. Но это лишь грубое качественное рассмотрение. Более тщательный генетический анализ позволяет сделать вывод, что здесь мы сталкиваемся не с нарушением баланса, а с тем, что регулирующие гены одного из родителей в результате скрещиваний постепенно «растворяются» в нерегулирующих генах другого родителя.

Попробуем прежде провести крайне упрощенный генетический анализ обоих партнеров. Для описания данного аспекта генетической конституции нам необходимы всего три гена (фиг. 45).

1. *Пигментный ген* (ПГ) вызывает образование меланофоров у *Platyopocilus maculatus*. Разумеется, он не может сам по себе определять, будут ли сформированы пигментные клетки. Решение о том, будет ли использована информация пигментного гена, зависит от «модификационных» генов. Здесь следует рассмотреть две различные системы генов.

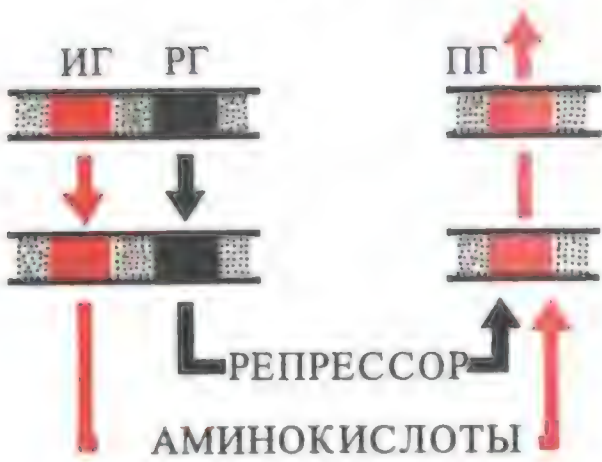
2. *Репрессорные гены* (РГ) подавляют активность пигментного гена или по крайней мере значительно ее ограничивают, как в случае с *P. maculatus*. Известно, что репрессорные гены находятся не на той хромосоме, что пигментный ген.

3. Помимо «тормозящих» (репрессорных) имеются «ускоряющие» (*индукционные*) гены (ИГ). Они способствуют развитию меланофоров, причем, по-видимому, весьма неспецифически, усиливая синтез аминокислот, а также регулируя состав аминокислотного пула.

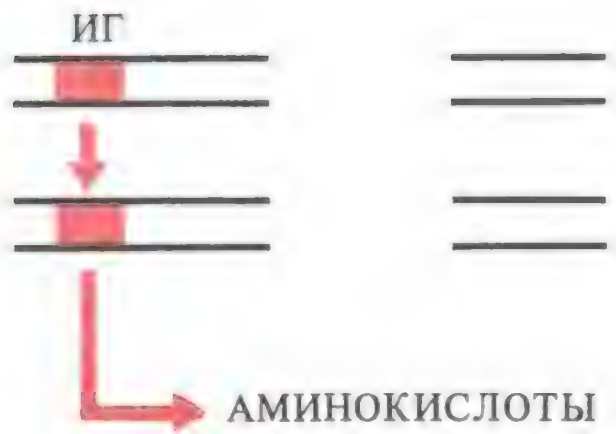
Оперируя этими генами, можно описать генетическую конституцию *Platyopocilus*, *Xiphophorus* и их гибридов и объяснить, как происходит образование меланом (см. фиг. 45).

Выше мы неоднократно упоминали о пигментных генах. Однако по существу нарушается регуляция не только синтеза меланина, но и синтеза самих клеток, продуцирующих меланин, то есть меланофоров. Следовательно, можно говорить о нарушении регуляции клеточных делений меланофоров. В соответствии с этим так называемые пигментные гены должны быть в первую очередь ростовыми генами. В норме ростовые гены эффективно подавляются, но у гибридов, полученных в результате возвратного скрещивания, тормоз отсутствует.

PLATYPODECILUS
MACULATUS



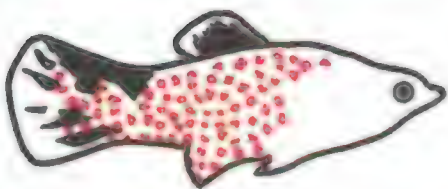
XIPHOPHORUS
HELLERI



Слева пигментные гены (ПГ) ингибируются репрессорным геном (РГ). Выработка цвета через неспецифическую индукцию (ИГ) не может происходить в условиях ингибирования.

Справа, у *X. helleri* в процессе эволюции не сформировался пигментный ген, а поэтому отсутствует и репрессор пигмента. Однако возможна неспецифическая индукция гена.

F₂-ГИБРИД



ГИБРИД,
ПОЛУЧЕННЫЙ
ВОЗВРАТНЫМ
СКРЕЩИВАНИЕМ



Слева: частичная дерепрессия пигментных генов в результате отсутствия репрессора. В таких условиях индукционные гены (ИГ) влияют на увеличение пятен и развитие опухолей.

Справа: подавляющая дерепрессия пигментных генов, поскольку репрессорные гены отсутствуют полностью. Здесь влияние индукционных генов ведет к развитию быстрорастущих меланом (Андерс с сотр.).

Этот случай можно также описать, пользуясь термином «халоны» (см. стр. 103 и след.): согласно Буллоу, халоны суть не что иное, как тканеспецифические вещества, вырабатываемые самой тканью и подавляющие скорость роста клеток. На основе концепции халонов модель опухолевой клетки будет выглядеть следующим образом:

а. Клетка может испытывать недостаточное влияние халона. В условиях недостаточности халона клетки должны делиться быстрее, чем нормальные.

б. Халоны, прямо или косвенно, должны влиять на синтез ДНК и митоз. По-видимому, при этом необходимо участие акцептора. Если он поврежден или полностью инактивирован, халоны не проявляют своего действия, и тканеспецифический тормоз митоза не срабатывает.

Но вернемся к гибридам рыб и их генам. Репрессорный ген соответствует фактору, вырабатывающему халон, а следовательно, косвенно и самому халону. Пигментный ген соответствует акцептору халона. Таким образом, утрата репрессора (халона) может непосредственно вызывать усиленное деление клеток и развитие опухоли.

Вспомним еще раз, какие изменения генетического материала мы рассматривали:

1. Изменения в хромосомном наборе и форме отдельных хромосом являются прямым указанием на изменение генетического материала во многих опухолях (филадельфийская хромосома).

2. Селекционирование опухолевых штаммов зависит от предсуществования измененных генов. В больших популяциях животных, по-видимому, достаточно скрытых мутированных генов, которые в конечном итоге могут вести к развитию рака и которые лишь необходимо сконцентрировать путем селекции.

3. Выведение гибридов также ведет к изменению генетического материала за счет замены родственных, но не идентичных хромосом или хромосомных участков.

До сих пор мы не касались «искусственного» канцерогенеза, но настало время вновь спросить, какую же роль играет наследственность в индуцировании опухолей под влиянием таких факторов, как облучение или химические вещества?

«Искусственный» канцерогенез и наследственность

Если мыши внутримышечно ввести метилхолантрен, образуются саркомы. В смешанной популяции мышей имеются животные, которые очень сильно реагируют на это вещество, и животные, у которых опухоли не образуются вовсе. Если два таких крайних признака разделить путем скрещивания, то можно получить штаммы либо с высокой, либо с низкой чувствительностью к метилхолантрину.

Такого рода эксперименты приводят нас к заключению, что искусственное индуцирование опухолей также зависит от генетической конституции животного. И здесь, как в случае спонтанных опухолей, под «генетической конституцией» мы подразумеваем множество факторов, в том числе утрату способности активировать канцерогены, а также некомпетентную или гиперкомпетентную иммунную систему. В условиях гипотетического окружения, когда метилхолантрен находится на постоянном уровне, вопрос о том, разовьется опухоль или нет, зависит лишь от генетической конституции. Таким образом, причинная подчиненность может быть обратимой: у чувствительных штаммов с постоянной генетической конституцией канцероген является главным фактором индуцирования опухоли, в то время как у животных, находящихся в условиях постоянного уровня канцерогена, таким фактором является наследственность.

Иногда канцероген и наследственность, если так можно выразиться, идут в одной упряжке: имеются мыши (например, штамм О28) с генетически детерминированным раком легкого (около 30% в возрасте свыше года). После дополнительной обработки диэтилнитрозамином рак легкого развивается у 90% мышей (Мор).

Итак, генетическая конституция вносит решающий вклад в превращение нормальной клетки в опухолевую под влиянием канцерогенного стимула. Но мы можем пойти дальше и спросить, не взаимодействует ли сам канцероген с генетическим материалом?

Рассмотрим еще раз гибриды меченосцев с опухолями на фиг. 45. Здесь репрессоры, контролирующие рост клеток, «растворяются» или полностью элиминируются в результате скрещивания. Подобного эффекта следовало бы ожидать и в том случае, если бы функция репрессора зависела от непосредственного воздействия на репрессорный ген. Но такое воздействие не что иное, как мутация!

И тут мы вплотную подошли к мутационной теории злокачественного роста (Уитмен, 1919; К. Х. Бауэр, 1928): канцерогенные стимулы (облучение, канцерогены) вызывают мутации; мутации, происходящие в тех участках генетического материала, где осуществляется регуляция роста, способствуют проявлению неопластических свойств опухолевой клетки. (Поборники чистоты языка, пожалуй, назвали бы это скорее мутационной гипотезой, а не теорией.)

Мутации, вызываемые канцерогенами, разумеется, происходят в соматических, а не в зародышевых клетках. Это значит, что изменения могут передаваться дочерним соматическим клеткам, но не потомству данного животного. Поэтому мутационную теорию рака скорее следовало бы назвать теорией «соматических мутаций».

Мутагенная и канцерогенная активности могут быть взаимосвязаны

Если придерживаться мутационной теории, то сильные мутагены должны быть и сильными канцерогенами, и наоборот. Давно известно, что рентгеновское облучение оказывает как канцерогенное, так и мутагенное действие; то же относится и к мягкому ультрафиолетовому облучению. Но не только облучение оказывает подобное двойное действие; многочисленные химические мутагены являются одновременно и канцерогенами. Достаточно вспомнить иприт (горчичный газ).

Связь между мутагенностью и канцерогенностью особенно наглядно проявляется на серии нитрозаминов: чем сильнее канцероген, тем больше проявляются его мутагенные свойства. Правда, это доказательство звучит не столь убедительно, когда вспоминаешь, что тест на канцерогенность проводится на крысах, а мутагенность проверяется на дрозофиле. Подобные несовместимые методы контроля, бесспорно, уязвимое место любой экспериментальной проверки мутационной гипотезы гена.

То же относится и к большинству исследований, направленных на сравнение канцерогенной и мутагенной активностей различных веществ. Поэтому нет ничего удивительного в том, что порой обнаруживаются вещества, которые, обладая мутагенной активностью, вовсе не являются канцерогенами, и наоборот.

Метилхолантрен является очень сильным канцерогеном для мышей и других животных. Между тем число мутаций, и у мышей также, под влиянием метилхолантрена не увеличивается. Да и рентгеновское облучение проявляет в этом плане существенные количественные отличия: у облученного животного значительно больше мутаций, чем опухолей,— прямая противоположность случаю с метилхолантреном. Сторонники мутационной теории могут на это резонно возразить: соматические мутации должны несколько отличаться от мутаций в зародышевых клетках. Для подтверждения этой точки зрения достаточно рассмотрения одних лишь анатомических признаков.

В самом строгом смысле слова допустимо сравнивать канцерогенное воздействие вещества только с его способностью вызывать соматические мутации. Для проведения сравнительных исследований Смит использовал табак: он вызывал опухоли у некоторых гибридов табака путем облучения. Как оказалось, у одного и того же растения облучение одновременно вызывало и соматические мутации определенных пигментационных генов. Мутация и канцерогенез шли разными путями; они воздействовали на различные клетки-мишени. Но, по мнению многих врачей, опухоли растений — не очень удачная модель. Однако и у животных (опыты вновь велись на дрозофиле) попытка установить прямое соотношение между генетическими мутациями и возникновением опухолей оказалась безуспешной.

Между тем и здесь имеются веские доводы в поддержку мутационной теории. Предположим, что некий процесс или вещество вызывают мутации соматических клеток, ведущие к продуцированию пигментов или к появлению каких-либо других видимых изменений. Некоторые из этих факторов трансформируют нормальную клетку в опухолевую («мутанты регуляции роста»). В селекции такая опухолевая клетка будет иметь огромные преимущества перед другими соматическими мутантами: она начнет производить клетки, подобные ей самой, во все возрастающем количестве, в то время как другие мутанты будут следовать нормальному ритму деления в ткани (в обычных условиях они делятся довольно редко). Таким образом, мутировавшие соматические клетки встречаются гораздо реже, чем клетки опухоли. Но не следует забывать, что даже макроскопически видимая опухоль возникает на микроскопической основе

и точно так же, как многие соматические мутации, поначалу недоступна визуальному наблюдению.

Иными словами, четкая взаимосвязь между мутагенной и канцерогенной активностями прослеживается лишь в исключительных случаях.

Мутационная гипотеза как теоретическая необходимость

Гипотеза мутации гена все еще ждет своего ясно выраженного экспериментального подтверждения. Однако это вовсе не означает, что от нее нужно отказаться. Напротив, она, как и прежде, очень важна уже по той причине, что в ней имеется теоретическая необходимость:

1. Опухолевые клетки передают свои неопластические свойства дочерним клеткам. Это значит, что ответственность за проявление неопластических свойств, по-видимому, лежит на генетическом материале.

2. В преобладающем большинстве случаев превращение нормальной клетки в опухолевую необратимо. Путь к раку — это дорога в один конец.

Оба критерия — «генетическая память» и необратимость — вполне применимы и к классической мутации. Соответственно другие генетические механизмы, такие, как постоянные модификации, очевидно, можно исключить (однако это наше утверждение противоречит Пито и Хайдельбергеру; см. *Cancer Research*, 1963). И тут логический круг замкнулся: оказывается, мутации обладают теми же свойствами, что и неопластические изменения. Поэтому вопрос о том, все ли канцерогены являются действительно мутагенами, имеет теперь второстепенную важность, особенно в свете убедительных доказательств, объясняющих, почему корреляция между мутагенезом и канцерогенезом может наблюдаться лишь в исключительных случаях.

Возражения против мутационной теории

С давних пор опухолевые вирусы были излюбленным аргументом против мутационной теории. Специалисты полагали, что возникновение вирусных опухолей нельзя объяснить с точки зрения мутации гена. Однако в последнее время эти опухоли используют в качестве поддержки му-

тационной теории. В самом деле, в данном контексте мутации не следует понимать в смысле изменения уже имеющегося генетического материала, но, безусловно, когда вирусный геном внедряется в геном клетки, можно говорить о мутациях, изменении генетического материала. И разумеется, в классической генетике имеются не только точечные мутации. Неожиданная «вспышка страсти» между мутационной теорией и вирусологией возникла вовсе не на основе новых экспериментов или каких-то поразительных открытий. Так называемые «новые» факты были давным-давно известны и неоднократно обсуждались. Просто, перефразируя известное изречение, «от ненависти до любви — один шаг».

Второе возражение против мутационной теории также постепенно исчезает: индуцирование опухолей — процесс медленный, иногда даже чрезвычайно медленный, между тем как мутации проявляются быстро, подчас даже слишком быстро.

Быть может, двухступенчатый эксперимент (мы говорили о нем на стр. 74) облегчит понимание этого очевидного парадокса. Вспомним, что оказывается возможным индуцировать латентные опухолевые клетки путем однократного (субпорогового) воздействия канцерогена и что эти латентные клетки могут развиваться в настоящую опухоль под влиянием неканцерогенного опухолевого активатора. Это поможет нам понять, почему первое быстрое индуцирование латентных опухолевых клеток (инициация) в какой-то степени связано с мутационным процессом, в то время как активация роста опухоли осуществляется без мутаций.

То обстоятельство, что для того чтобы вызвать гепатомы, ДАБ приходится скармливать животному длительное время, заставляет подозревать, что одной «встречи» канцерогена с генетическим материалом недостаточно. Как показывает тщательный количественный анализ, таких встреч должно быть много. Следовательно, о канцерогенезе надо говорить как о многоударной реакции и рассматривать латентный период как время, необходимое для нанесения достаточного числа «ударов».

Несколько заключительных слов о мутационной теории

«Осознание того, что раковая клетка является клеткой мутированной, безусловно, одно из основных достижений в области исследований рака» (Ойлер). «Сегодня общепринято считать, что превращение нормальной клетки в опухолевую связано с изменением наследственности» (Шульц). Оба высказывания взяты из книги К. Х. Бауэра «Проблема рака» [4], которая, по признанию автора, «продиктована духом и языком мутационной теории».

Но предоставим слово и другим ученым: «Следует признать, что вопрос о том, можно ли рассматривать рак как мутацию или нет, еще не решен. Если собрать и проанализировать все научно установленные факты, которые свидетельствовали бы в пользу или против мутационной теории, то придется согласиться, что весы склоняются на сторону противников этой теории» (Хестон). Оберлинг цитирует это высказывание в своей книге «Загадка рака» [31]. По его мнению, «рак — это, разумеется, мутация, если только каждое наследуемое изменение клетки считать мутацией». И далее: «Однако, если мы не хотим идти на поводу у термина по той лишь причине, что он подвернулся в нужный момент, нам следует более четко определить концепцию мутации». А затем, на фоне теории мутаций, которая, по его мнению, существенно «потускнела», Оберлинг энергично развивает общую вирусную теорию.

Своего объективного решения проблема еще не нашла. Все выводы несут на себе печать предубежденности, но, как известно, даже большая доза предубежденности еще никогда не вредила хорошей рабочей гипотезе. По-видимому, одиночной мутации в классическом смысле этого слова недостаточно для возникновения опухолевой клетки. Но бесспорно, что в генетическом материале должны происходить решающие изменения, а это значит, что канцероген должен взаимодействовать с клеточной ДНК. На некоторых аспектах взаимодействия канцерогенов с ДНК мы остановимся в следующей главе.

Заключение

Имеются серьезные основания предполагать, что решающие изменения, превращающие нормальную клетку в опухолевую,— это изменения генетического материала.

1. Их легко заметить по изменению внешнего вида и числа хромосом (хромосомная теория злокачественных опухолей Бовери). Некоторые неоплазмы отличаются характерными изменениями хромосом (например, филадельфийская хромосома у больных хроническим миелоидным лейкозом). Однако наличие опухолей с нормальным хромосомным набором не позволяет считать этот признак универсальным.

2. Селекция дает возможность выделить генетический материал, в конечном итоге ведущий к возникновению опухолей. Таким образом были получены штаммы животных со 100%-ной заболеваемостью спонтанными опухолями; подобного рода животные являются важным инструментом в экспериментальной онкологии. На их примере ясно видно, что рак может наследоваться, хотя простых генетических связей между заболеваемостью опухолями и типом опухоли обнаружить не удалось. Наследуется не рак как таковой, а лишь предпосылки к его возникновению, но в генетике это положение само собой разумеется.

3. Иногда простое межвидовое скрещивание ведет к возникновению опухолей. Примеры гибридов-опухоленосителей можно найти как в ботанике, так и в зоологии. Генетический анализ показывает, что регуляторные гены в одном из видов могут в большей или в меньшей мере подавляться при скрещивании.

4. Согласно мутационной теории рака (Бауэр, 1928), канцерогенные стимулы физической или химической природы вызывают мутации в соматических клетках. Мутациям могут подвергаться и механизмы регуляции роста. Этим, по всей вероятности, проще всего объясняется «генетическая память» клетки, благодаря которой из материнской раковой клетки возникают дочерние клетки того же типа рака. Однако экспериментального подтверждения этой теоретически почти необходимой концепции пока не получено.

ДНК и канцерогенез

Жизнь в буквальном смысле этого слова висит на ниточке. Фантастически длинная цепочка ДНК регулирует структуру и функции как бактериальной клетки, так и клетки млекопитающих. (Нити ДНК одной-единственной клетки мыши, если их вытянуть в одну, растянутся почти на 1 м.) Для химика это по существу весьма простые волокна (полинуклеотиды); специалист по полимерам назвал бы их полиэфирными волокнами. Они ненамного сложнее нейлона или дакрона.

Однако при всем том молекулы ДНК — весьма «специальные» волокна: их четыре строительных блока лишь на первый взгляд группируются беспорядочно; на самом деле они кодируют примерно 20 аминокислот белков (генетический код), причем каждой аминокислоте соответствуют три нуклеотида (триплетный код). При считывании такой молекулярной «морзянки» информация с ленты ДНК переписывается на ленту РНК (информационная РНК; транскрипция). Транскрибирующими ферментами являются РНК-полимеразы. Дешифровка записи производится на рибосомах; здесь отдельные аминокислоты разносятся на соответствующие места на информационной РНК носильщиками (транспортная РНК; трансляция).

Все эти процессы очень сложны, но их конечный результат в принципе прост: аминокислоты вводятся в виде смеси в «черный ящик», из которого они выходят уже объединенными в определенном порядке. Порядок диктуется ДНК. Аминокислотная последовательность четко определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК (основное положение молекулярной биологии).

Но ДНК в клетке не только определяет последовательность аминокислот в белках. Она способна снимать с себя идентичные копии (принцип комплементарности двойных цепочек) и, следовательно, в качестве генетического мате-

риала может гарантировать идентичное воспроизведение клетки.

Два процесса — репликация ДНК и синтез белков — тесно связаны между собой. В обоих новая нить оказывается комплементарной нераскрученной ДНК в двойной спирали. Если эта новая нить состоит из дезоксирибонуклеотидов, то воссоздается идентичная копия оригинальной двойной спирали. Если полимеризуются рибонуклеотиды, то образуется информационная (или рибосомная) РНК, которая в свою очередь принимает участие в синтезе белка.

В экспериментальной онкологии ДНК в основном представляет интерес в качестве генетического материала, поскольку, если рассматривать опухолевые клетки как новый штамм, следует предположить, что они располагают новым генетическим материалом.

Опухолевая ДНК как канцероген

Кажется, появилась возможность создавать опухолевые клетки весьма простым способом: с этой целью нормальные клетки обрабатывают препаратом ДНК из опухолевых клеток и «новый» генетический материал переносят непосредственно в нормальные клетки. Такой эксперимент был проделан Кантаровым. Исследователь приготовил ДНК из гепатом, инкубировал клетки из регенерирующей печени с этим препаратом, а затем инъецировал обработанные клетки печени прямо в печень крысы. Через 12 недель Кантаров обнаружил опухоли в месте введения, правда, в небольшом числе случаев.

Однако подобные сообщения все еще продолжают оставаться редкостью: неопластическую трансформацию нормальных клеток под воздействием опухолевой ДНК удавалось наблюдать не многим. Обычно препараты нуклеиновой кислоты оказывают лишь цитотоксический эффект: нуклеиновая кислота в количествах свыше 200 мкг/мл убивает клетки в культурах. Почему же трансформация под действием опухолевой ДНК вызывает такие трудности? У бактерий передача генетических признаков при помощи препаратов ДНК — самая обычная процедура еще со времени экспериментов Эвери.

Видимо, дело в том, что клетки высших организмов ведут себя иначе, чем бактерии. В 1956 г. появилось сообщение, в которое трудно было поверить: якобы под влия-

янием инъекций ДНК удалось изменить генетическую природу уток. В Страсбурге ДНК, выделенную из уток породы Khaki Campbell, вводили белым пекинским уткам. Потомство пекинских уток, как утверждали, обладало некоторыми признаками уток породы Campbell. Впоследствии история со страсбургскими утками оказалась «уткой», однако затем появились публикации об успешных экспериментах на дрозофиле и на клетках в культуре ткани.

Возможность трансформации клеток высших организмов под действием ДНК спорна, но не исключена. Нельзя сказать, что ДНК не в состоянии проникать в клетки, поскольку было с успехом показано, что ДНК может проникать внутрь клетки как макромолекула. Правда, большая ее часть (80 %) остается на поверхности клетки и лишь незначительное количество действительно проникает внутрь. В данном случае клетка, вероятно, не оказывает никакой ферментативной помощи, ибо даже при 0°С ДНК все-таки проникает внутрь.

Разумеется, между бактериальной клеткой и клеткой млекопитающих имеются определенные различия, главным образом в структуре генетического вещества: у бактерий простые тяжи ДНК, в клетках высших организмов — сложные хромосомные структуры. Понятно, что нити ДНК не так-то легко строятся в хромосому. Однако и для этого «правила» имеется важное исключение.

Инфекционная ДНК опухолевых вирусов — потенциальный «химический канцероген»

Инфекционную ДНК можно выделить из вируса полиомы. Иными словами, клетки могут быть заражены как с помощью этой ДНК, так и с помощью интактного вируса. В слоях клеток с агаром будут образовываться обычные просветления, которые несложно подсчитать. Такие препараты ДНК также являются канцерогенными: если их вводить новорожденным хомякам, у последних разовьются опухоли.

Почему же вирусная ДНК может совершать то, что так трудно сделать опухолевой ДНК? Возможно, что вирусная ДНК «знает», как встроиться в геном хозяина, в то время как обычная ДНК считается макромолекулярным инородным телом, от которого клетке нужно избавиться.

Весьма вероятно, что решение выносится еще на пути

ДНК к клетке: сыворотка мыши инактивирует бактериальную ДНК за несколько минут, в то время как ДНК вируса полиомы подобному воздействию не подвергается. Следовательно, у нее больше возможностей достичь чувствительную клетку и трансформировать ее.

С точки зрения химика, такая ДНК является «химическим канцерогеном» в самом строгом смысле слова. Ее строительные блоки четко определены, характер связи между ними известен, известно также, сколько блоков должно быть собрано в полидезоксирибонуклеотид. Разумеется, большое число легко расщепляемых эфирных связей между отдельными дезоксинуклеотидами делает этот канцероген весьма уязвимым, а значительные размеры затрудняют проникновение в клетку.

И все же ДНК полиомы имеет определенные преимущества перед таким химическим канцерогеном, как 3,4-бензпирен: она, по-видимому, содержит всю информацию, необходимую для «переориентации» нормальной клетки. Подобно лжецману, она намеренно ведет корабль на рифы. Бензпирен и другие химические канцерогены должны проникнуть на вершину «правлящей иерархии клетки», иными словами, прежде всего добраться до ДНК.

Канцероген нарушает синтез ДНК

После применения канцерогенных веществ синтез ДНК нередко снижается. Если смазывать канцерогенными углеводородами спинку мыши или скармливать их с пищей, то в обоих случаях быстро наступит подавление синтеза ДНК. За подавлением следует период усиления синтеза ДНК.

Обычно исследователи не придают этому большого значения, считая как подавление, так и усиление синтеза ДНК следствием «побочных токсических эффектов». Как полагают, за нарушением следует фаза регенерации поврежденных клеток. Но теперь оказывается, что канцероген не просто нарушает синтез ДНК.

Канцерогены нарушают синтез адаптивных ферментов

Адаптивными называют ферменты, которые синтезируются лишь в тот момент, когда клетка испытывает в них необходимость. Известно много примеров, особенно среди микроорганизмов; однако и в печени некоторые фер-

менты синтезируются только в том случае, когда в них возникает необходимость. Так, триптофан индуцирует синтез пирролазы — фермента, катаболизирующего триптофан; тирозин индуцирует синтез тирозинтрансаминазы и т. д. (так называемая субстратная индукция). Канцерогены могут подавлять эту индукцию: ДАБ и ацетиламинофлуорен нарушают индукцию триптофаном триптофан-пирролазы (Пито).

Канцероген способен также нарушать и более сложные индукционные процессы: глюкозо-6-фосфатаза индуцируется в печени кортизоном, и эта гормональная индукция также может блокироваться канцерогенным 3'-метил-ДАБ. Если по аналогии с регуляторными процессами у бактерий предположить, что при индукции ферментов транскрибируется ранее супрессированная (подавленная) информация с ДНК, то можно прийти к следующему выводу: канцерогены нарушают транскрипцию ДНК.

Аналогичные результаты были получены де Майером в совсем иной системе. При изучении влияния канцерогенных и неканцерогенных углеводов на продуцирование вируса в культурах клеток ученый обнаружил, что канцерогенные вещества подавляют продуцирование ДНК-вирусов, в то время как РНК-вирусы оказались к этим веществам нечувствительными. В данном случае неканцерогенные углеводороды не оказывали никакого действия. Результаты де Майера также наводят на мысль о том, что канцерогены нарушают транскрипцию ДНК.

Блокирование информации, записанной на ДНК, должно означать, что синтез информационной РНК снижается, а то и полностью подавляется. На языке биохимии это означает, что ДНК-зависимые РНК-полимеразы с трудом считывают информацию с ДНК, модифицированной канцерогеном.

Можно получить чистые препараты РНК-полимераз и провести с ними синтез РНК на ДНК *in vitro*. Для этого требуются лишь чистый фермент, блоки для построения РНК (аденозинтрифосфат, гуанозинтрифосфат и т. д.) и матричная ДНК. Без ДНК РНК-полимераза не способна соединять строительные блоки в цепочку РНК.

Тролл сравнил ДНК из нормальной печени с ДНК из печени, обработанной канцерогеном, и обнаружил, что «канцерогенная» ДНК менее пригодна для «затравки» синтеза РНК, чем нормальная ДНК. Это значит, что канце-

рогены действительно могут затруднять транскрипцию информации, содержащейся в ДНК.

Проще всего предположить, что канцерогены связываются непосредственно с ДНК и тормозят продвижение по ней РНК-полимеразы.

Химические канцерогены реагируют с клеточной ДНК

Длительное время эту реакцию не принимали во внимание. В течение ряда лет интересы исследователей, за редкими исключениями, были сосредоточены на связывании химических канцерогенов растворимыми белками, и именно в этом связывании усматривалась ключевая реакция, обуславливающая превращение нормальной клетки в опухолевую. Даже сегодня ученые не полностью отказались от этой мысли, хотя былой уверенности у них нет — все больше наблюдений «не вписываются» в эту концепцию.

1. По сообщению Болдуина, трициклохиназолин — гетероциклический канцероген — лишь в незначительной мере связывается растворимыми белками, причем связывание происходит главным образом за счет альбумина, а не за счет *h*-белка.

2. Связывание канцерогенов растворимыми белками можно снизить без соответствующего снижения выхода опухолей. Подобные эксперименты также наводят на мысль о том, что комплекс белок — канцероген не имеет прямой связи с канцерогенезом.

Сейчас все больший интерес начинают приобретать реакции канцерогенов с ДНК. Проводимые исследования показали, что способность канцерогенов взаимодействовать с ДНК клетки весьма вероятна. Чем активнее канцероген, тем сильнее он связывается с ДНК. Брукс исследовал связывание канцерогенных и неканцерогенных полициклических углеводородов с ДНК в коже мыши и обнаружил, что связывание вполне соотносится с индексом Айболла (стр. 64), характеризующим канцерогенную активность: нафталин с индексом 0 не связывается с ДНК, тогда как 7,12-диметилбензантрацен с самым высоким из данной серии индексом связывается наиболее интенсивно (1 молекула на 25 000 нуклеотидов).

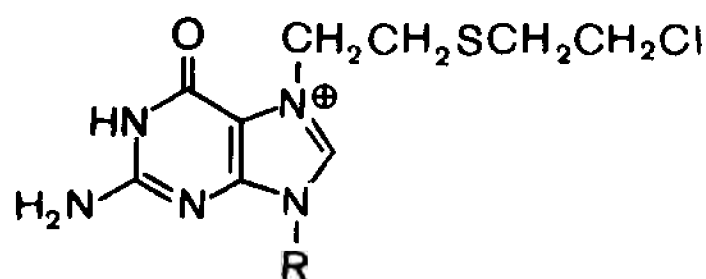
Наблюдения Колбёрна и Баутвелла также подтверждают гипотезу, согласно которой связывание канцерогенов с ДНК имеет отношение к канцерогенезу. Оба ученых

обнаружили, что β -пропиолактон — вещество, вызывающее опухоли кожи,— в различных дозах индуцирует опухоли, причем это различие находится в прямой зависимости от связывания β -пропиолактона с ДНК кожи мыши.

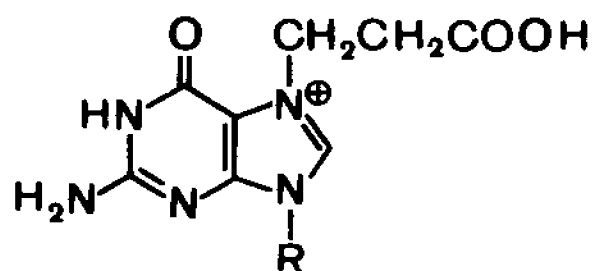
Форма, в которой полициклические углеводороды находятся в связанном состоянии с ДНК, еще не установлена. Что же касается других канцерогенов, то для них положение в этом смысле несколько лучше.

Ковалентные связи между канцерогенами и гуанином

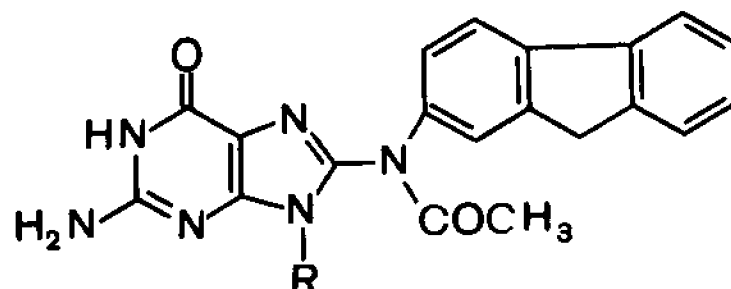
Из строительных блоков ДНК с гуанином (одним из пуриновых оснований) канцерогены связываются чаще всего. Рассмотрим несколько примеров: иприт (горчичный газ) взаимодействует с «верхним» азотом в 5-членном кольце (N_7):



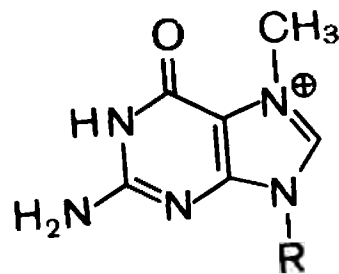
Эта реакция подчиняется общим правилам алкилирования (см. стр. 251). β -Пропиолактон связывается с гуанином аналогичным образом:



Ацетиламинофлуорен также связывается с гуанином, но с углеродом, находящимся в позиции 8:



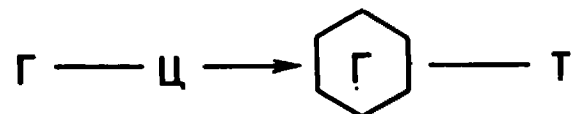
Метилнитрозомочевина также алкилирует N₇ гуанина:



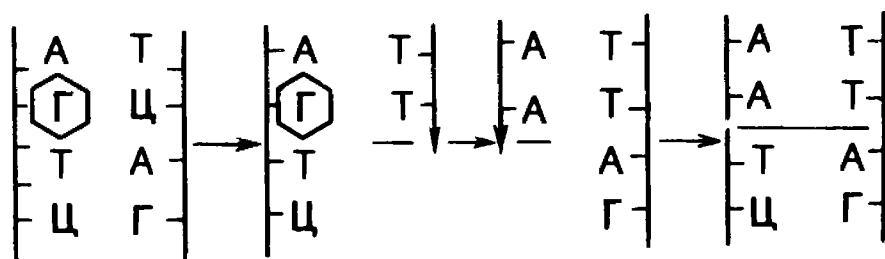
Известны и другие реакции (алкилирование аденина, связывание 6-кислорода гуанина). Как предполагают, именно эти, а не упомянутые выше реакции могут играть решающую роль в канцерогенезе.

Возможные последствия реакций с гуанином

Даже небольшое изменение гуанина (Г), вызванное введением метильной группы, может иметь далеко идущие последствия для ДНК. Азот-1 становится более кислым, то есть связь между этим атомом азота и атомом водорода становится слабее. В результате вместо нормального спаривания оснований Г — Ц происходит образование пары Г (метил) — Т:



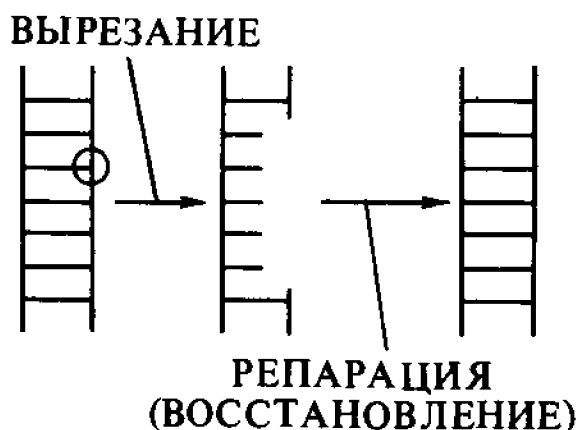
Вначале это лишь небольшая ошибка, однако она сохраняется во всех последующих генерациях ДНК, поскольку при дальнейших репликациях в комплементарную цепочку вместо первоначального Г вводится А:



В конечном итоге пара Г — Ц замещается парой А — Т. Теперь уже ошибка вкрадывается в обе цепочки (мутация). Разумеется, ДНК не остается полностью беззащитной против подобного рода повреждения.

Клетки могут восстанавливать дефектную ДНК

Специалисты в области генетики бактерий установили, что ДНК, поврежденная облучением, способна восстанавливаться клеткой. Как теперь стало известно, подобные восстановительные процессы могут происходить и в клетках млекопитающих:



Если во время прохождения восстановительного процесса дать клеткам радиоактивный тимидин (один из четырех строительных блоков ДНК), то он встроится в восстановленные участки ДНК и его несложно будет обнаружить. С помощью такого приема удастся продемонстрировать новый синтез, хотя по существу происходит лишь исправление ДНК. (Новый синтез ДНК, естественно, может происходить независимо от S-фазы клеточного цикла, в связи с чем его иногда называют «внеочередным синтезом ДНК».)

Можно предположить, что механизмы восстановления играют определенную роль в канцерогенезе: клетки, в которых репарационная система малоэффективна или вообще отсутствует, должны быть особенно чувствительными к действию канцерогенов. И такие клетки были открыты: в фибробластах, выделенных из кожи пациентов с генетическим заболеванием *Xeroderma pigmentosum*, репарационная система нарушена. Поэтому повреждения, полученные геномом в результате воздействия света, исправить невозможно. Клетки больных *Xeroderma pigmentosum* — не единственный пример возможной связи между «репаразами» и индукцией опухолей. По-видимому, репарационные ферменты играют важную роль и в так называемом канцерогенезе *in vitro*.

Неопластическим трансформациям легче подвергаются пролиферирующие клетки

Нормальные клетки в культуре *in vitro* могут превращаться в опухолевые под воздействием таких канцерогенных стимулов, как химические канцерогены, облучение и опухолевые вирусы.

Правда, для такой трансформации *in vitro* имеется одно важное ограничение: она проходит с трудом (если вообще проходит), если пытаются трансформировать покоящиеся клетки в популяции, достигшей насыщения. Если же культуру клеток обработать до достижения ими этой стадии, пока они продолжают делиться, то произойдет трансформация. Одна и та же культура клеток, будучи «молодой» и пролиферирующей, чувствительна к канцерогенной обработке, а будучи «старой» и покоящейся, не чувствительна (Захс) (фиг. 46).

Такого рода наблюдения проводили не только по трансформации *in vitro*. Как выяснилось:

1. Индуцирование лейкозов путем рентгеновского облучения происходит легче, когда клетки-мишени (например,



Ф и г. 46.

клетки костного мозга) делятся наиболее интенсивно. Этот процесс происходит во время эмбрионального развития; следовательно, рентгенологическое исследование плода рискованно.

2. В опухоли, поражающей корни растений (корончатый галл), также можно видеть, что трансформация клетки в опухолевую каким-то образом связана с ее пролиферацией. Корончатый галл может быть вызван заражением растений бактериями (*B. tumefaciens*).

«Однако простого присутствия бактерий недостаточно для трансформации нормальных клеток, если растение не подготовлено к этому дополнительно — то есть не сделано чувствительным — путем нанесения раны. Иными словами, возбудитель может проявить свое онкогенное действие лишь в том случае, если клетки подвергаются раздражению, которым сопровождается ранение. Более того, действие онкогенного фактора не является одноступенчатым процессом. Клетки, подвергшиеся трансформации через 34 ч после нанесения раны, остаются доброкачественными и растут очень медленно. Если трансформация происходит через 50 ч после нанесения раны, то опухолевые клетки растут несколько быстрее. Клетки же, трансформированные между 60 и 72 ч после нанесения раны, растут очень быстро и полностью автономны. Тщательное изучение позволило сделать вывод, что такая резкая трансформация происходит в случае, когда изменения вызываются на стадии заживления раны, непосредственно перед тем, как нормальные клетки растения начинают наиболее интенсивно делиться» (А. Браун).

Именно деятельностью репараз можно объяснить гораздо меньшую чувствительность покоящихся клеток: в покоящихся клетках репаразы имеют достаточно времени для исправления ошибок в структуре ДНК, вызванных канцерогенами,— для «вырезания» участков с ошибками и замещения их тяжами ДНК, не содержащими ошибок. Таким образом, действие канцерогена элиминируется. И наоборот, в клетках, в которых фазы синтеза ДНК быстро следуют одна за другой, ошибка может передаваться вновь синтезированной ДНК. Тем самым канцерогенный эффект будет «зафиксирован» (см. выше).

Рассмотренный механизм помогает объяснить, почему клетки, в которых вскоре после контакта с канцерогенным агентом происходит удвоение ДНК, имеют больше возможностей подвергнуться трансформации. Степень злокачественности опухолей из растительных клеток может быть также объяснена исходя из предположения, что атака канцерогена на интенсивно пролиферирующую ткань проходит с большим успехом, поскольку в этом случае обеспечивается

более постоянное взаимодействие канцерогена с ДНК. В таких опухолях истинным канцерогеном, очевидно, являются не бактерии, а сопровождающий их вирус, однако в данной связи это не столь важно.

Связывание без связей: интеркаляция

Наиболее известным примером такого нековалентного свободного присоединения служат красители типа акридинового оранжевого. Молекулы этих красителей вклиниваются (интеркалируют) между основаниями ДНК в двойной спирали в виде плоских дисков. В результате происходит неправильное спаривание оснований в процессе репликации, что в свою очередь ведет к мутациям.

Классические канцерогены, особенно полициклические углеводороды, также могут интеркалировать. В опытах, главным образом *in vitro*, можно показать, что углеводороды способны внедряться в молекулы ДНК. Наиболее эффективным оказался пирен, но, к сожалению, он не канцерогенен. Поэтому нельзя с уверенностью утверждать, что интеркаляция сама по себе играет важную роль в канцерогенезе.

Заключение

«Новые» свойства опухолевой клетки следует соотносить с генетическим материалом (ДНК) клетки. Простой перенос свойств опухолей с помощью опухолевой ДНК вызывает сомнения — опухолевая ДНК является весьма спорным канцерогеном. Что же касается ДНК опухолевых вирусов, то она признана канцерогеном.

Связывание канцерогенов с ДНК, очевидно, играет важную роль в химическом канцерогенезе:

1. Чем сильнее канцероген, тем лучше он связывается с ДНК.

2. Степень связывания (по крайней мере, в случае β -пропиолактона) коррелирует с выходом опухолей. Однако проведенные эксперименты в лучшем случае указывают лишь на определенную тенденцию, не более того.

В некоторых случаях удалось точно установить природу связывания между канцерогеном и ДНК: связывание идет преимущественно по гуанину, главным образом через алкилирование по N₇.

В отдельных случаях может играть роль интеркаляция.

Превращение нормальной клетки в опухолевую зависит от «пролиферативного статуса» пораженной клетки: в процессе деления клетки легче превращаются в опухолевые, чем клетки покоящиеся. Обсуждались возможные механизмы; выяснилось, что репаративные ферменты в покоящихся клетках имеют достаточно времени для исправления повреждений, вызванных канцерогенным агентом, прежде чем эти повреждения будут зафиксированы при очередной репликации ДНК.

Несколько моделей химиотерапии опухолей

Методы, принятые в химиотерапии бактериальных заболеваний, нельзя использовать в борьбе против опухолевых клеток: пенициллин, например, блокирует синтез клеточной мембраны млекопитающих. Между тем опухолевая клетка и клетка нормальная, несмотря на все различия, в первую очередь являются клетками млекопитающих. Вот почему ученые повсеместно весьма пессимистично относились к возможности получения веществ, которые могли бы избирательно убивать опухолевые клетки. Однако в 1946 г. появились сообщения об успешном лечении болезни Ходжкина при помощи азотистого иприта. Азотистый иприт — чрезвычайно токсичное соединение; при его использовании требуется крайняя осторожность в дозировке. И все же исследователи рискнули приступить к изготовлению соединений подобного типа в надежде, что удастся найти соединения, которые были бы способны убивать опухолевые клетки, не нанося существенных повреждений нормальным клеткам в нормальной ткани. Однако к настоящему времени синтезировано свыше 250 000 химических соединений, проверена их эффективность против опухолей и установлено, что ни одно из них не оказалось «чудодейственным средством». Несмотря на это, многие химиотерапевтические препараты имеют свои достоинства; некоторые из них играют такую же роль в лечении больных раком, как хирургия и облучение¹.

Чем больше мы узнаем о тончайших различиях между опухолевыми и нормальными клетками, тем легче создавать

¹Авторы несколько преувеличивают значение химиотерапии рака. К сожалению, до сих пор излечение при помощи лекарственных препаратов достигнуто только в 6—7 формах злокачественных опухолей (лимфома Бэркита, трофобластическая болезнь и некоторые другие). При лечении рака химиотерапия имеет вспомогательное значение. Подробнее см. Б. Глемзер, *Человек против рака*, изд-во «Мир», 1972. — *Прим. ред.*

химиотерапевтические агенты, обладающие нужными нам свойствами. В течение длительного времени повышенная скорость деления опухолевых клеток считалась их наиболее типичным признаком и в то же время наиболее уязвимой стороной. Поэтому наибольшую известность получили те химические вещества, действие которых направлено на нарушение синтеза ДНК опухолевых клеток.

Алкилирующие агенты

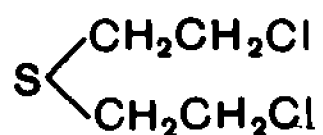
Студенту-химику приходится знакомиться с алкилированием практически в первый же день работы в лаборатории органической химии.

Смешивая иодистый метил с этанолом, он получает этилметилловый эфир. В другом случае он получает моно-, ди- и триэтиламины из иодистого этила и аммиака:



В обоих случаях атом водорода замещается алкильным остатком (метил или этил). CH_3I и $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ — алкилирующие агенты; этанол и аммиак подвергаются алкилированию.

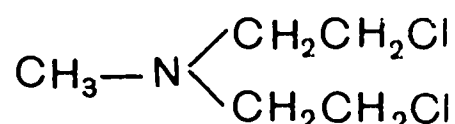
Алкилирующие вещества играют большую роль в различных органических синтезах. Благодаря своей реакционной способности они незаменимы в синтезе многих соединений. Строго говоря, их следует держать в сейфе, где находятся яды: они агрессивно реагируют с клеточными компонентами и блокируют жизненные клеточные функции. В первой мировой войне некоторые особо реакционноспособные алкилирующие агенты использовались в качестве химического оружия. Это в первую очередь относится к иприту:



Еще тогда ученые обратили внимание на то, что иприт, помимо тяжелых ожогов кожи и смертельных поражений легких (в результате высвобождения соляной кислоты), действует главным образом на быстро пролиферирующие ткани, в частности на слизистую кишечника и костный мозг. В период второй мировой войны также имелась возможность изучать воздействие иприта на клетки крови. Во время

воздушного налета в порту Бари (Италия) судно, груженное 100 т иприта, подверглось бомбардировке, и в атмосферу вырвались большие количества газа. Часть людей, подвергшихся действию ОВ, тут же умерла; у тех, кто остался в живых, впоследствии отмечались серьезные изменения в крови, сопровождающиеся понижением числа лейкоцитов (лейкопения).

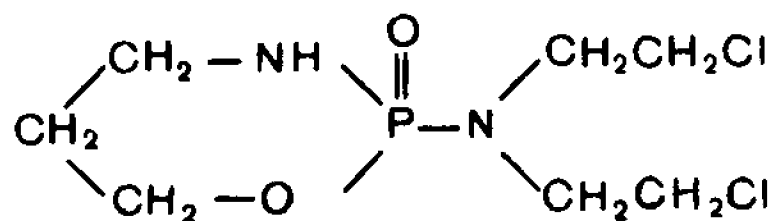
Возникает вопрос: почему бы иприту не обладать также способностью снижать число лимфоцитов при лейкозах? Классический серный иприт оказался слишком токсичным для терапевтических целей, но так называемый азотистый иприт (вещество, лишь незначительно отличающееся от серного)



оказался полезным в борьбе с некоторыми формами лейкозов. Однако с течением времени этот препарат не нашел большого применения в химиотерапии.

Азотистый иприт с протектором

Соединения иприта, обладающие высокой реакционной способностью, с трудом доходят до опухоли: по пути к ней они вступают во взаимодействие с компонентами других клеток и сыворотки. Пытаясь обойти эти трудности, исследователи предприняли поиски производных, которые на всем пути к опухоли сохраняли бы иприт в связанном состоянии, а в опухоли высвобождали бы его (принцип латентной активности). К наиболее известным соединениям такого типа относится циклофосфамид (эндоксан)



в котором азот становится частью циклического эфира фосфамида (Арнольд). Предполагалось, что фосфорный эфир будет предпочтительно захватываться быстро пролиферирующими опухолевыми клетками и лишь в них активироваться. Однако по существу эндоксан активируется в печени и прямой атаки на опухолевые клетки практически не наблюдается. Надежда найти не слишком токсичное

опухолеспецифическое соединение иприта не оправдалась. И все же эндоксан до сих пор считается одним из самых активных препаратов, эффективных против широкого спектра экспериментальных опухолей.

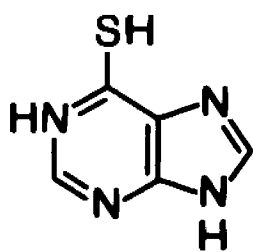
Прямая атака на ДНК опухоли

Алкилирующие агенты взаимодействуют со всеми «алкилируемыми» соединениями, в том числе с белками и нуклеиновыми кислотами. В настоящее время ученые склоняются к мысли, что реакция с ДНК — ключевая реакция, объясняющая биологическое действие этих соединений. При алкилировании гуанина и аденина происходит разрыв цепи и даже образование поперечных связей (в случае бидентатных ипритов). Очевидно, что серьезно поврежденная ДНК не в состоянии восстанавливаться.

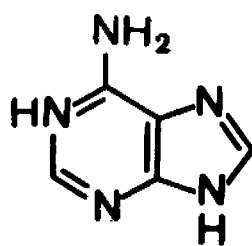
Алкилирующие агенты представляют собой проблему, которую не так-то легко разрешить. Правда, имеется не прямой метод эффективного подавления синтеза ДНК.

Антиметаболиты в терапии опухолей

Среди продуктов обмена веществ клетки встречаются метаболиты всех сортов: промежуточные продукты синтеза белка (аминокислоты), строительные блоки нуклеиновых кислот (нуклеотиды) и т. д. Химикам удалось изготовить серию слегка измененных метаболитов, близких к истинным метаболитам и отличающихся от них одной или несколькими незначительными деталями. Хорошо известным примером такого антиметаболита является 6-меркаптопурин (6-МП) (Хитчингс)



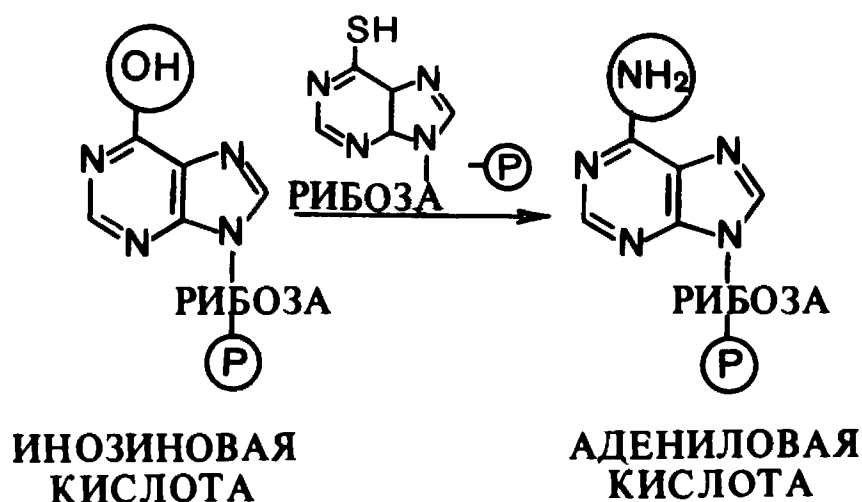
6 - МП



АДЕНИН

который почти во всех отношениях напоминает аденин. Если бы такому псевдостроительному блоку нуклеиновых кислот, подобно троянскому коню, удалось внедриться в ДНК, это могло бы как-то повлиять на синтез ДНК.

И действительно, 6-меркаптопурин внедряется в РНК и ДНК, но на синтез ДНК оказывает, по-видимому, лишь косвенное влияние. Он превращается в рибозидфосфат (соответственного нуклеотида) и в качестве такового препятствует превращению инозиновой кислоты в адениловую кислоту



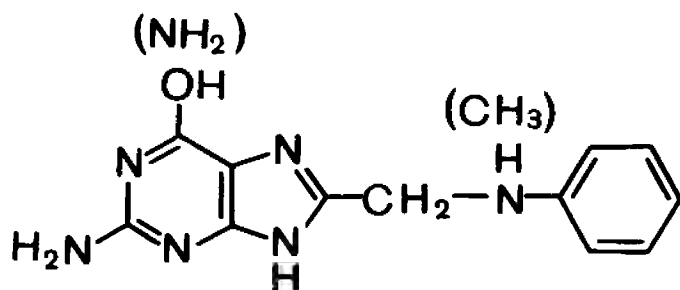
А без этого превращения синтез нуклеиновых кислот невозможен. Фермент, ответственный за эту реакцию, «вводится в заблуждение» 6-МП-нуклеотидом, связывается с ним и тем самым лишается возможности участвовать в превращении нужного субстрата (инозиновая кислота). Кроме того, 6-МП блокирует новый синтез пуринов на ранних этапах, давая неверный сигнал ферментам о том, что в клетке имеется достаточно пуринов (ложная отрицательная обратная связь в биосинтезе).

Эти косвенные эффекты также сильно влияют на новый синтез ДНК. Следовательно, 6-МП оказывает ингибирующее действие на опухолевые клетки, которые получили сигнал вступить в синтез ДНК.

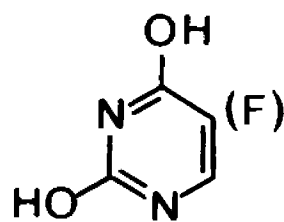
Но меркаптопурин хороший опухолевый ингибитор не только поэтому: нормальные клетки млекопитающих могут легко катаболизировать 6-МП, превращая его в 6-тиомочевую кислоту (при помощи ксантиноксидазы). Однако в целом опухолевые клетки содержат менее активную ксантиноксидазу и, значит, в большей мере подвержены действию 6-МП, чем нормальные клетки. Иными словами, 6-МП оказывает избирательное действие на опухолевые клетки.

В терапии опухолей используется серия и других анти-метаболитов. Среди них самыми известными и самыми эффективными, очевидно, являются метотрексат (Фарбер)

и фторурацил (Хайдельбергер):



ФОЛИЕВАЯ КИСЛОТА
(МЕТОТРЕКСАТ)



(ФТОР) УРАЦИЛ

Метотрексат — антагонист фолиевой кислоты, необходимой для синтеза нуклеотидов; фторурацил в первую очередь влияет на метилирование уридинмонофосфата до тимидинмонофосфата (не менее важный этап в синтезе ДНК). В последнее время в терапии опухолей применяют арабинозид цитозина: в этом соединении рибоза замещена арабинозой.

Побочный иммунодепрессивный эффект

Все химиотерапевтические агенты, с которыми мы познакомились, антиметаболиты и алкилирующие вещества, токсичны и для нормальных клеток. Вследствие этого дозировка возможна лишь в довольно узких пределах. Помимо побочного действия, которое эти вещества оказывают на нормальные клетки, еще более неприятным является их действие на иммунную систему (иммунодепрессивное действие): алкилирующие агенты и антиметаболиты снижают способность иммунной системы распознавать чужеродный материал и улавливать опухолевые клетки. Поэтому лечение цитотоксическими препаратами всегда связано с риском: опухолевые клетки необходимо полностью устранить, чтобы на долю иммунной защиты не оставалось ничего. Не удивительно, что поиск нетоксичных ингибиторов опухолей — сейчас важнейшая проблема. Имеется первое свидетельство успеха: получена аспарагиназа, препарат из *E. coli*.

Аспарагиназа заставляет опухолевые клетки голодать

В 1953 г. Кидд сделал удивительное открытие: инъекция сыворотки морской свинки мышам с экспериментальными лимфомами, он обнаружил регрессию опухолей.

Заинтересовавшись этим явлением, Брум фракционировал сыворотку морской свинки, чтобы выяснить, какая именно фракция ответственна за противоопухолевое действие. Он установил, что все активные фракции содержали аспарагиназу — фермент, расщепляющий аминокислоту аспарагин на аммиак и аспарагиновую кислоту.

Но спрашивается: почему именно клетки лимфомы реагировали на аспарагиназу? Ответ простой: этим опухолевым клеткам требуется внешний источник аспарагина; они не в состоянии вырабатывать его сами. Таким образом, аспарагиназа препятствует поступлению в клетки жизненно важного для них аспарагина. Нормальные клетки обычно вырабатывают свой собственный аспарагин, так что для них аспарагин не может считаться «незаменимой» аминокислотой.

В сыворотке морских свинок содержится очень мало аспарагиназы (для лечения одного больного потребовалось бы 100 000 л сыворотки); в сыворотке лошади этого фермента еще меньше. Однако из *E. coli* аспарагиназа может быть получена в довольно больших количествах (Машбёрн). С этим бактериальным ферментом были проведены тщательные исследования, но они не привели к каким-либо сенсационным открытиям. И все же в химиотерапию был введен новый принцип: вместо неспецифического действия цитотоксических веществ использовалось направленное голодание опухолевой клетки. Решающим оказался на первый взгляд безобидный дефект опухолевой клетки, а именно ее неспособность синтезировать собственный аспарагин.

Лабелизация (ослабление) опухолевых клеток избытком кислоты

Гликолизирующие опухоли вырабатывают молочную кислоту и таким образом сдвигают рН окружающей среды в кислую сторону, что ведет к их же повреждениям. Обычно этот избыток кислоты не очень явно выражен. Однако при помощи специального приема его можно усилить. С этой целью мыши вводятся внутривенно 4 г глюкозы на 1 кг веса в течение 100 мин. Тем самым значительно усиливается прохождение глюкозы через гликолиз и повышается количество вырабатываемой молочной кислоты. Как показали измерения, внутри опухоли величина рН снижается до 5,8, но при этом гибели опухолевых клеток не наблюдалось.

Многие опухолевые клетки характеризуются повышенной чувствительностью к высокой температуре

Если опухолевые клетки (гепатома Морриса 5121 или гепатома Новикова) нагреть до 43°C, то интенсивность их дыхания, определяемого по поглощению кислорода, снижается на две трети. Между тем нормальные клетки (регенерирующая печень в этой же модельной системе) сохраняют свою дыхательную активность. Синтез ДНК в перегретых опухолевых клетках снижается еще сильнее: после 2 ч предварительной инкубации включение тимидина достигает всего 10% нормального уровня. Нормальные же клетки (регенерирующая печень) и здесь продолжают синтезировать ДНК с прежней интенсивностью.

Однако ни обработка теплом сама по себе, ни искусственное повышение кислотности среды не могут вести к обратному развитию опухолей. Но если опухолевые клетки повреждены в результате таких сравнительно «безвредных воздействий», их можно полностью уничтожить введением очень низких доз эффективных химиотерапевтических препаратов.

Многоэтапная терапия

Наиболее интенсивно комбинирование канцеролитических эффектов перегревания и переокисления исследовалось фон Арденне и его коллективом. В одном из опытов опухолевые клетки инкубировали в растворе азотистого иприта-N-оксида ($3 \cdot 10^{-4}$ М) при рН 7,3 и температуре 36°C (нормальные условия) или при рН 6,3 и 40°C (лабилизирующие условия). Если число убитых клеток (тех, что окрашивались трипановым синим) подсчитывали через разные промежутки времени, то можно было наблюдать поразительное различие между «нормальными» и «лабилизированными» (ослабленными) опухолевыми клетками: двойное воздействие «переокисление + гипертермия» усиливало действие цитостатического агента в 10 раз.

В организме нормальные клетки в значительной мере нечувствительны (и об этом важно помнить) к такой обработке, поскольку:

- 1) глюкозный шок не вызывает закисления среды в нормальной ткани;
- 2) нормальные клетки вообще менее чувствительны к

высоким температурам. Но в целом весь организм, естественно, реагирует на повышение температуры: по-видимому, почти неизбежны вазоциркуляторные расстройства, что серьезно лимитирует широкое применение предложенного метода.

Цепные реакции ведут к «естественной» смерти клетки

Судя по всему, лизосомы занимают ключевую позицию в многоэтапной терапии. Мы уже говорили об этих «наборах для самоубийства» с их зарядом гидролитических ферментов. Оптимум рН этих ферментов лежит в кислой среде (рН 5), поэтому их активность низка при величинах рН, характерных для нормальной ткани. Если, как полагает фон Арденне, повредить лизосомы в клетке в результате терапевтического воздействия, то активация ферментов в сильно переокисленной опухолевой ткани будет настолько высокой, что она внесет существенный вклад в разрушение соседних клеток. Это значит, что поврежденная клетка помогает разрушить соседние клетки, а те в свою очередь помогают разрушить окружающие их клетки и т. д. Стоит лишь начаться такому разрушению, и оно распространится по всей опухолевой ткани как цепная реакция. Но едва эта цепь достигнет нормальной ткани, она прервется, поскольку в нормальной ткани среда не кислая и лизосомные ферменты не могут в ней активироваться.

Разумеется, в рассматриваемую схему укладываются лишь опухоли с интенсивным гликолизом, а, как мы уже видели, не все опухоли обладают достаточно интенсивным гликолизом. И все же значительное число опухолей чувствительно к подобному воздействию.

Этот метод можно считать «естественным», поскольку сходные механизмы (перегревание и выход лизосомных ферментов) наблюдаются при воспалении, с аналогичным размягчением и уничтожением поврежденной ткани. Следовательно, противоопухолевая терапия сводится всего-навсего к активации физиологического процесса «сжигания отходов». Фон Арденне сформулировал это так: «Основным принципом и целью многоэтапной терапии рака являются запуск и жесткая локализация естественных цитолитических механизмов клетки в опухолевой ткани».

Противовирусная терапия опухолей?

При лечении вирусных опухолей можно воспользоваться противовирусными препаратами, но их арсенал не так уж велик. Разумеется, против вирусных, как и против бактериальных инфекций, могут оказаться полезными антитела. Убитый или ослабленный вирус способен вызвать иммунизацию, как и пилюли с вакциной против полиомиелита. Так, против лейкозных вирусов возможна защитная иммунизация (см. стр. 185).

В организме млекопитающих вырабатывается еще одно противовирусное оружие: *интерферон*. Так называют белок, вырабатываемый клетками при попадании в них вирусных частиц и блокирующий размножение вирусов. К сожалению, интерферон обладает видовой специфичностью (клетки мыши могут быть защищены лишь мышинным интерфероном, клетки крысы — крысиным и т. д.). Естественно, что для борьбы с гриппом или насморком необходим интерферон человека.

Для получения интерферона был разработан остроумный косвенный метод: поли И/Ц (полиинозиновая — полицитидиловая кислота) стимулирует выработку интерферона даже в отсутствие вируса. Эта искусственная двухтяжевая РНК не только препятствует выработке вируса в клеточной культуре, но и эффективна в борьбе против вирусных заболеваний.

Поли И/Ц имеет больше преимуществ, чем простое блокирование продуцирования вирусов; она подавляет развитие опухолей, даже если эти опухоли и не считаются (по крайней мере пока) вызванными вирусом. Возможно, эффект ингибирования опухолей не имеет ничего общего с ее антивирусным эффектом: поли И/Ц неспецифически стимулирует систему иммунной защиты и таким образом защищает организм против опухолевых клеток. Именно этим объясняется механизм регрессии опухоли.

Следует отметить, что теоретически любой препарат, эффективно ингибирующий продуцирование вирусов (как, например, новый препарат амантадин), не должен оказывать влияния на геном вируса, если он включается в геном хозяина. Однако это, по-видимому, является критическим моментом в индуцировании опухолей вирусами. Из этого следует, что хотя любым из упомянутых выше методов

можно воспользоваться, чтобы предотвратить заболевание, нет оснований полагать, что такие препараты окажут воздействие на уже имеющиеся опухоли (за исключением случая иммунной стимуляции, вызываемой поли И/Ц).

На основании этих же соображений предполагают, что опухоли, индуцированные РНК-вирусами, можно с успехом лечить ингибиторами (производные рифампицина) РНК-зависимых ДНК-полимераз (см. стр. 219). Этот фермент, видимо, необходим для включения вирусной информации в геном хозяина, однако к моменту диагностирования опухоли процесс заходит уже слишком далеко. Поэтому лечение ингибиторами РНК-зависимой ДНК-полимеразы будет похоже на запираание дверей конюшни после кражи коня. Хотелось бы думать, что это не так, но все же не следует возлагать слишком большие надежды на успех подобного лечения.

Новая звезда?

В середине текущего столетия биологи неожиданно для себя вынуждены были прибегнуть к теологической терминологии и заговорить о «боге амеб» (Арндт). Причиной послужили наблюдения Арндта, сделанные им на клетках слизистого гриба *Dicystostelium*. На подходящем субстрате эти клетки передвигаются свободно, как амеба, но могут внезапно прекратить свои беспорядочные движения и, как бы повинувшись команде, направиться в центр занимаемой ими «территории», где они консолидируются в многоклеточный организм. Маленькая «улитка» некоторое время продолжает двигаться по субстрату, затем приподнимается и в конце концов из нее выпадают споры. Подобное превращение отдельных одноклеточных организмов в клеточный «кооператив» особенно поражает при цейтраферной съемке. Биологи, менее склонные к теологии, попытались объяснить такое поведение клеток действием некоего вполне земного вещества и, обнаружив таковое, дали «богу амеб» вполне материалистическое имя — акразин (поскольку *Dicystostelium* принадлежит к отряду Acrasiales). Химическая структура акразина была расшифрована лишь в последние годы. Оказалось, что исследователи, сами того не подозревая, сталкивались с этим веществом и ранее.

В 50-х годах выяснилось, что гликогенолиз в клетках печени регулируется низкомолекулярным термостабильным

веществом — аденозин-3',5'-монофосфатом (цАМФ). Этот особый нуклеотид получается из АТФ в результате реакции, катализируемой ферментом, который локализуется на поверхности клетки:



Реакция стимулируется адреналином, поэтому понятно, почему адреналин усиливает также и гликогенолиз. Ученые стали рассматривать цАМФ как посредника адреналина и назвали его «вторичным посланником» (Е. Сатерленд). Впоследствии оказалось, что не только адреналин, но и другие гормоны имеют своего «мальчика на побегушках», например глюкагон, адренокортикотропный гормон и гормон, стимулирующий развитие меланоцитов. Для каждого из них цАМФ играет роль вторичного посланника. В довершение ко всему обнаружилось, что акразин — вещество, заставляющее одиночные клетки *Dicytostelium* объединяться в многоклеточный организм, является не чем иным, как цАМФ.

В последние годы цАМФ оказался в центре внимания исследователей. Его возможности в контролировании биологических процессов кажутся неисчерпаемыми. Это дало повод к несколько ироническому, но довольно точному замечанию, которое появилось на страницах журнала *Nature*: «Те, кто сожалеет о том, что время витализма миновало, наиболее близким к *élan vital*¹ веществом могут считать циклический АМФ».

Очевидно, что циклический АМФ целесообразно испытать в противоопухолевой терапии, а пример с *Acrasiales* наводит на мысль, что можно повлиять на «общественное» поведение и других клеток. И действительно, появились сообщения о том, что «бог амеб» способен влиять на рост опухолей как *in vitro*, так и *in vivo*. Но, разумеется, вещество, способное воздействовать на самые различные клетки, следует использовать в противоопухолевой терапии с чрезвычайной осторожностью.

¹*Élan vital* (франц.) — жизненный порыв, жизненная энергия. Это выражение принадлежит французскому философу Анри Бергсону (1859—1941). — Прим. перев.

Заключение

Главным объектом многих моделей противоопухолевой терапии является воздействие на ДНК опухолевой клетки. С помощью антиметаболитов ученые пытаются вводить в ДНК ложные строительные блоки или блокировать синтез истинных блоков; алкилирующие же агенты могут попросту «встраиваться» в ДНК.

Аспарагиназа действует не столь решительно: катаболизируя необходимый для жизнедеятельности опухолевых клеток аспарагин, она заставляет их голодать.

В основу принципа многоэтапной терапии положен «запуск» естественных цитолитических механизмов со строгой их локализацией в опухолевой ткани. Антивирусные препараты могут иметь профилактическое значение, но ожидать, что они окажутся эффективными против уже сформировавшихся опухолей, не следует.

В своем произведении «*Maghrebinischen Geschichten*» Грегор фон Реццори [34] рассказывает о некоем Шородоке и о его теории дождя. «Дождь идет из облаков,— объясняет Шородок.— Облака же, как губки, пропитаны водой. Ветер гонит по небу эти набухшие губки. Двигаясь с разных сторон, они встречаются и сжимаются. Но если сжать губку, наполненную водой, из нее начинает течь вода. Вода падает на землю, поэтому и идет дождь». Дотошным оппонентам, которые требовали веских доказательств его теории, Шородок отвечал: «Какие еще доказательства нужны? Разве вы не видите, что идет дождь?»

Теория и наблюдение, гипотеза и эксперимент обычно более строго связаны между собой, чем в приведенном примере. Однако ни одна наука не обходится без поспешных суждений и даже предрассудков, и онкология не является исключением. Эта наука, с ее широким кругом наблюдений, которые к тому же поразительно оторваны друг от друга, по существу более чем какая-либо другая нуждается в некоторой, пусть в чем-то основанной на предрассудках, но все же внушающей доверие гипотезе, чтобы проложить хотя бы едва заметную тропку в непроходимых джунглях фактов и представлений, которые сегодня кажутся нам несопоставимыми.

Вместе с тем современные идеи и представления зиждутся не только на фантазии: в их основе лежат надежные экспериментальные данные. Прежде чем выдвинуть свою теорию о нарушении дыхания в раковых клетках, Варбург измерял дыхание и гликолиз бесчисленное число раз. Миллеры и Поттер, наблюдая связывание канцерогенов белками, обнаружили, что в развивающихся в результате опухолей такие белки отсутствовали. Лишь тогда они рискнули сформулировать свою теорию делеций (нехваток). К. Х. Бауэр долгое время изучал мутагенное и канцерогенное дей-

ствие рентгеновского облучения, прежде чем предложил общую мутационную теорию рака. Оберлинг исследовал вирусные опухоли и, лишь проведя множество экспериментов, пришел к выводу, что опухолевые вирусы служат причиной всех опухолей.

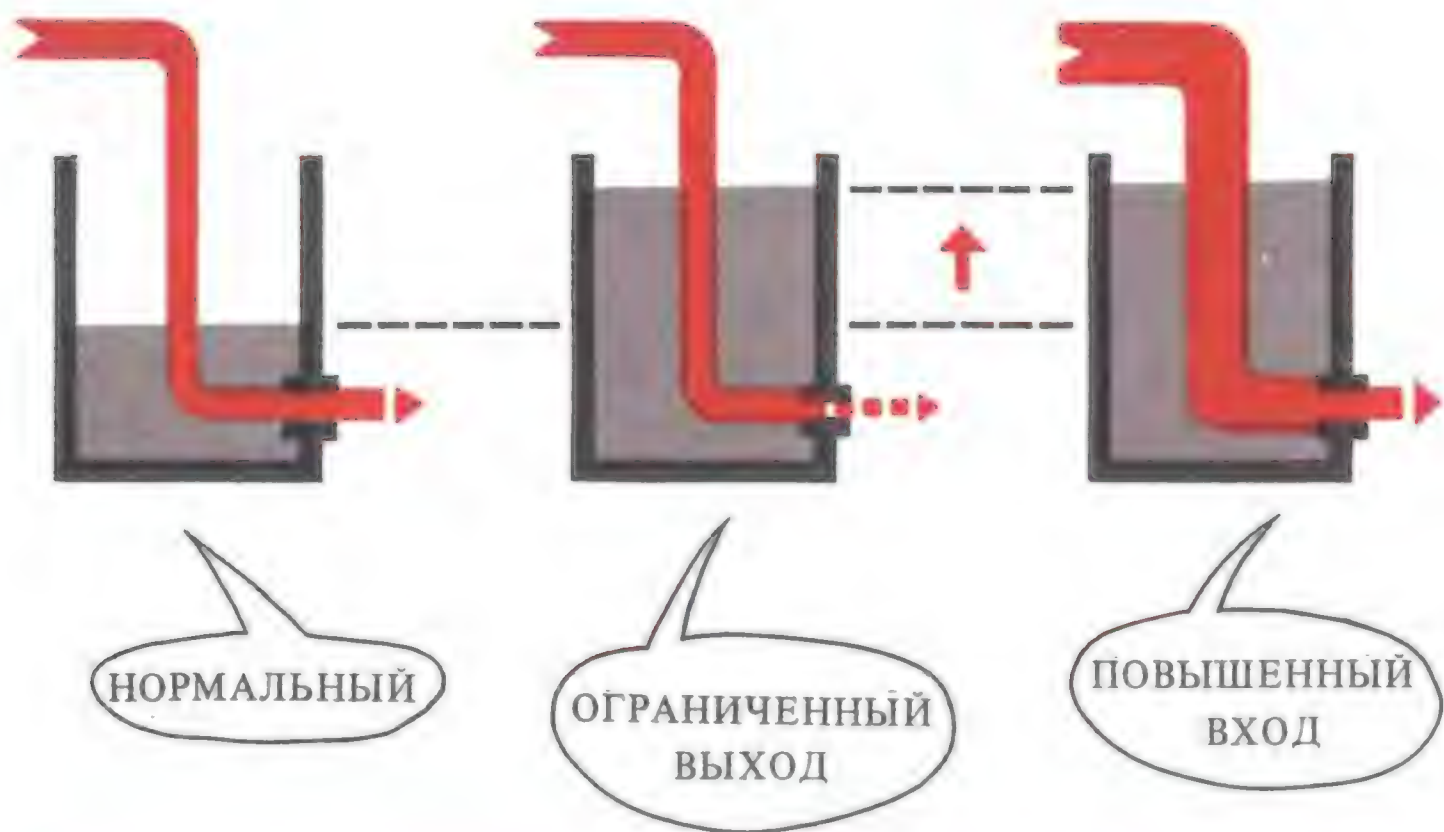
Научные предрассудки, по крайней мере в принципе, могут быть отброшены. Однако на деле они так же живучи, как и все другие заблуждения и предрассудки. О многих из них даже сегодня мы не вправе с уверенностью сказать, что они оказались ошибочными: просто они несколько состарились и утратили былую привлекательность. «Старые солдаты не умирают, они постепенно сходят со сцены». И хотя накал страстей со временем ослабевает, нередко мы сожалеем об уходящем.

В современной науке бытуют свои вполне жизнеспособные, хотя по большей части и не высказанные предрассудки, если можно так выразиться — догмы в разменной монете для повседневного пользования. Многие из них снабжены этикеткой «очевидное», что не мешает время от времени смахивать с них пыль и задумываться над их достоверностью.

Не все опухолевые клетки растут быстрее

Всего несколько клеток активно растущей опухоли, размножаясь, могут достигнуть веса в несколько граммов за считанные дни: гепатома Новикова или саркома Йошиды убивают крысу в течение недели после перевивки. И неважно, будут ли опухолевые клетки развиваться как солидная опухоль или же будут расти в виде свободных отдельных клеток (асцитная опухоль) в брюшине. Так или иначе, в обоих случаях опухолевые клетки действительно ведут себя подобно бактериям в хорошей питательной среде: их почти единственным занятием является размножение. Даже когда медленно растущие опухоли постепенно обгоняют в росте материнскую ткань, опухолевые клетки растут быстрее, чем нормальные соседние клетки.

Однако было бы неверным утверждать, что все опухолевые клетки делятся быстрее нормальных. Рассмотрим гидродинамическую модель (фиг. 47): в сосуде поддерживается постоянный уровень жидкости; поступление и расход равны. Если уровень в сосуде возрастает, это означает либо увеличение поступления, либо снижение расхода. В обоих



ГИДРОДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Ф и г. 47.

случаях возникает неустойчивое положение; содержание жидкости в сосуде должно увеличиваться. (Разумеется, в нашей модели уровень жидкости не может увеличиваться бесконечно; с повышением уровня жидкости увеличится давление, а следовательно, давление на выходе. На каком-то новом уровне скорость выхода жидкости сравняется с возросшей скоростью поступления. Таким образом, уровень жидкости устанавливается на новой отметке.)

Для поддержания опухолевого роста вовсе не обязательно, чтобы происходило усиление клеточных делений. Тот же эффект наблюдается и в случае увеличения средней продолжительности жизни отдельных клеток.

На примере ороговевающих клеток кожи можно сделать вывод, что неопластические клетки живут дольше, чем нормальные, и что процесс нормального старения и перехода в «мертвые» роговые слои значительно замедляется. Естественно, что масса такой «перезрелой» клеточной популяции должна увеличиваться. Сетеле в этой связи говорил о «нарушенном созревании клеток» в противовес альтернативному процессу «ускоренного деления клеток».

Эпидермальные опухоли — не единственный пример опухолей, которые могут развиваться без соответствующе-

го стимулирования митозов. В популяциях лейкозных клеток также имеются «вечно юные» клетки, которые не намерены уступать место новым лимфоцитам.

Итак, не все опухолевые клетки растут быстрее нормальных.

Догма трансформации

Согласно этой догме, «канцерогены — будь то химические вещества, физические факторы или же онкогенные вирусы — превращают нормальные клетки в опухолевые» (фиг. 48).

На первый взгляд приведенный тезис представляется вполне очевидным, и в качестве невысказанного предположения он стоит за многими биохимическими исследованиями по канцерогенезу. Однако при более близком рассмотрении оказывается, что канцерогены воздействуют на всю ткань, а не на отдельные клетки.

Вплоть до недавнего времени опухолевые вирусы считались единственными канцерогенами, которые в состоянии трансформировать нормальную клетку в результате непосредственного воздействия. Лишь в последние годы удалось трансформировать клетки в культуре ткани под влиянием химических канцерогенов *in vitro* (Захс, Хайдельбергер и др.).

И все же проведенные эксперименты еще не доказывают, что канцерогенные агенты превращают нормальные клетки непосредственно в опухолевые клетки в целостном организме животного. Более того, появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что не следует недооценивать косвенных механизмов канцерогенеза. Но здесь начинается уже следующая догма.

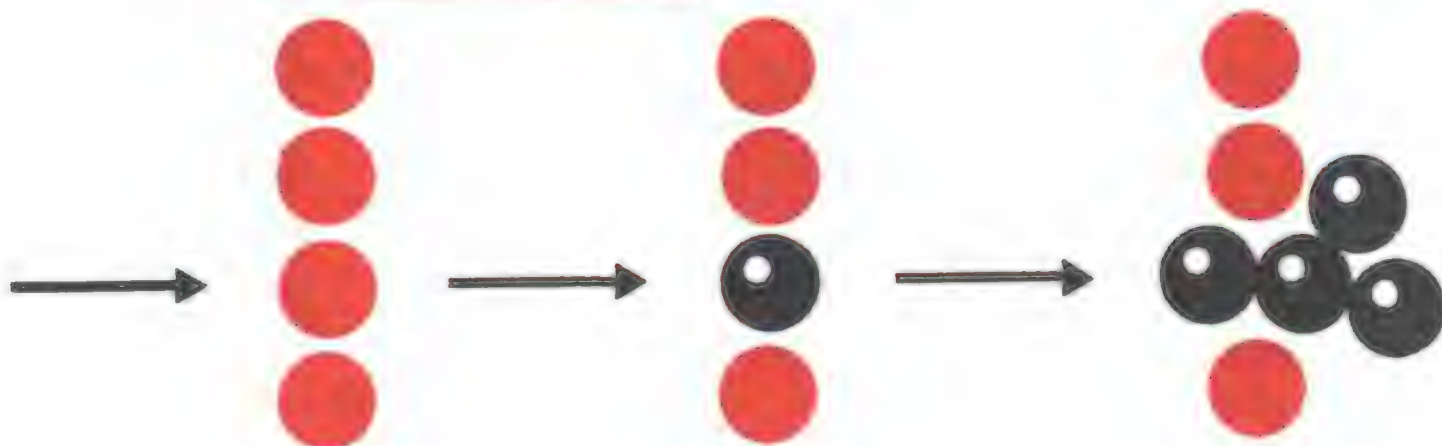
Догма селекции

Эта догма утверждает: «Канцерогены выбирают предсуществующие опухолевые клетки; они не индуцируют новых опухолевых клеток» (см. фиг. 48).

Согласно этой догме, опухолевые клетки устойчивее по отношению к токсичным канцерогенам, чем нормальные, чему есть экспериментальные подтверждения:

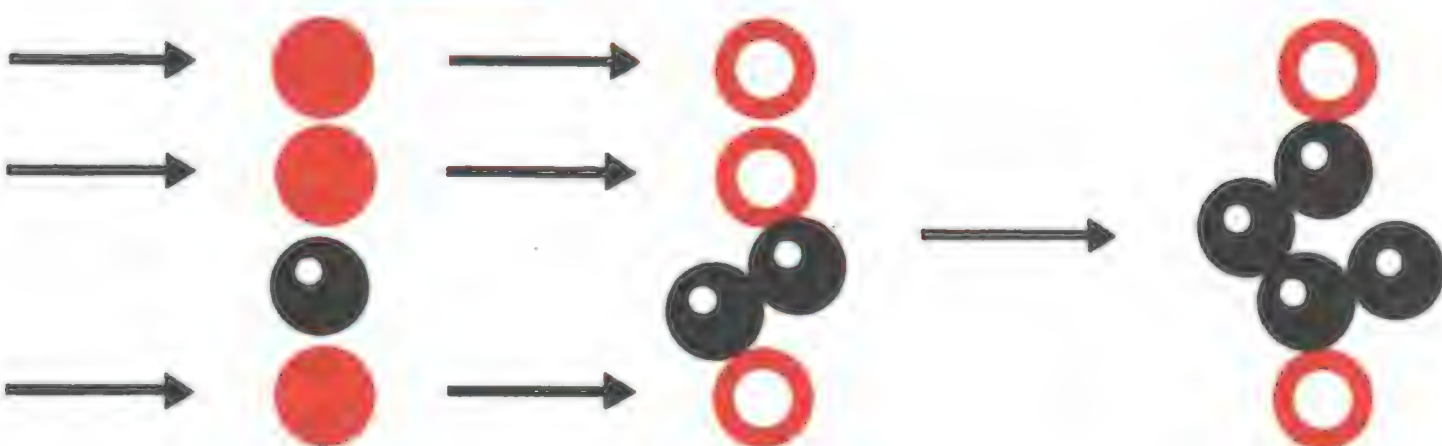
1. Если нормальные клетки печени отравить четыреххлористым углеродом, в паренхиме печени образуются

ДОГМА **ТРАНСФОРМАЦИИ**



Канцероген трансформирует нормальную клетку в неопластическую, что ведет к новой популяции клеток, больше не подчиняющихся правилам регуляции роста

ДОГМА **СЕЛЕКЦИИ**



Канцероген выбирает предсуществующие опухолевые клетки, токсические «побочные воздействия» канцерогенов на нормальные клетки играют здесь решающую роль

ДОГМА **ИЗОЛЯЦИИ**



Канцероген выводит нормальные клетки из поля ростовой регуляции. В крайних случаях совершенно нормальные клетки могут вести себя подобно опухолевым

Ф и г. 48.

обширные некрозы. Вместе с тем клетки опухолей, индуцированных этим веществом, гораздо устойчивее к его некротизирующему действию.

2. Фибробласты в культуре ткани повреждаются бензпиреном. Клетки сарком, индуцированных бензпиреном, устойчивы по отношению к этому углеводороду.

3. Диметилнитрозамин (ДМН) индуцирует опухоли печени. Клетки нормальной печени повреждаются ДМН; в печени возникают обширные некрозы. Но опухоли, индуцированные ДМН, не чувствительны к токсическому действию этого вещества. Эммелот нашел очевидное объяснение такой сопротивляемости: в нормальных клетках имеется ферментная система, которая превращает ДМН в его активную форму (см. стр. 92). В устойчивых опухолевых клетках эта система отсутствует, и отравления ДМН не происходит.

Избирательная устойчивость к канцерогенам позволяет объяснить, почему линия неопластических клеток перерастает общую клеточную популяцию ткани. Таким образом, токсический эффект канцерогенов нельзя рассматривать как побочный; напротив, это подлинно движущая сила канцерогенеза. Еще в 30-х годах Хэддоу постулировал это положение, когда обнаружил, что повреждающее действие всех исследованных им канцерогенных веществ коррелирует с их канцерогенной активностью.

Разумеется, это объяснение неприменимо в тех случаях, когда кратковременное введение канцерогена вызывает развитие опухолей. Если крысы получают полулетальную дозу диэтилнитрозамина в течение трех дней, у них развиваются карциномы почки через 12—14 мес. Если смазывать спинку мыши 200 мкг метилхолантрена, у животного в конце концов развиваются папилломы и карциномы. Хомячки погибают от трахеальных папиллом после однократного подкожного введения диэтилнитрозамина. И наконец, реакция мышей на стимулирование активной фракцией кротонного масла (A_1) не зависит от времени начала стимулирования — произошло ли это через неделю или через 11 недель после обработки мыши 25 мкг диметилбензантрацена. В подобных случаях не легко усмотреть, каким образом канцероген может воздействовать на селекцию клеток.

Но почему все-таки опухоли развиваются не сразу? По всей вероятности, это обусловлено процессами, которые

не имеют прямой связи с селективным действием канцерогена.

Можно предположить, что происходит медленное ослабление защиты организма против преформированных опухолевых клеток. (Подобное ослабление защитных механизмов с возрастом хорошо знакомо иммунологам.) Это означает, что опухолевые клетки, возникающие в ответ на одноразовую дозу, должны дожидаться именно момента ослабления.

Догмы трансформации и селекции не исключают друг друга. Почему бы канцерогену прежде не трансформировать клетку, а уже затем провести отбор в ее пользу? Это напоминает двухступенчатый процесс индуцирования опухолей, о котором мы уже говорили. Однако независимо от того, приводит ли к образованию опухолей селекция сама по себе или же в сочетании с трансформацией, исследования, связанные с биохимическими или гистохимическими изменениями в процессе канцерогенеза, выявляют неприятные факты.

Рассмотрим один лишь пример: обнаружено, что введение канцерогена (метилхолантрена, диметилбензантрацена) вызывает сначала снижение синтеза ДНК в ткани (кожа), а через некоторое время — его повышение. На основании этого ученые пришли к выводу, что так называемые «первичные события», ведущие к превращению нормальной клетки в опухолевую, имеют некоторое отношение к метаболизму ДНК. Однако, как выяснилось, вывод был довольно поспешным, ибо наблюдаемые явления можно также отнести за счет первых этапов в цепи реакций, ведущих к токсической дегенерации ткани, а не к превращению в опухолевую клетку. Именно на этом положении и настаивает догма селекции: практически все канцерогены являются токсичными веществами, следовательно, в достаточно высоких дозах они вызывают повреждения клетки и в некоторых случаях — ее гибель.

Токсические побочные эффекты индуцирования опухолей знакомы каждому патологоанатому. Воспаление кожи и возникновение на ней папиллом тесно связаны между собой; существует, по-видимому, непосредственная связь и между циррозом и раком печени. На здоровой коже рак никогда не развивается, точно так же весьма проблематично, чтобы из здоровой печени образовалась гепатома.

В опытах с животными тяжелые повреждения печени

возникают при скармливании гепатотропных веществ (таких, как ДАБ) или некоторых нитрозаминов. Однако при низких суточных дозах (2 мг/кг) возможно индуцирование гепатом без цирроза печени. В этом случае канцерогенные и токсические эффекты, очевидно, обособливаются, что заставляет нас сомневаться в решающей роли селекции при индуцировании опухолей.

Догма изоляции

Догма селекции не усматривает в развитии опухоли ничего выдающегося; согласно этой догме, нет даже необходимости в формировании опухолевых клеток — они могут находиться в организме с самого начала, возникнув еще в процессе эмбрионального развития. Поначалу они просто лежат где-то в ткани, словно в уютном гнездышке; потенциально злокачественные, они ждут своего часа.

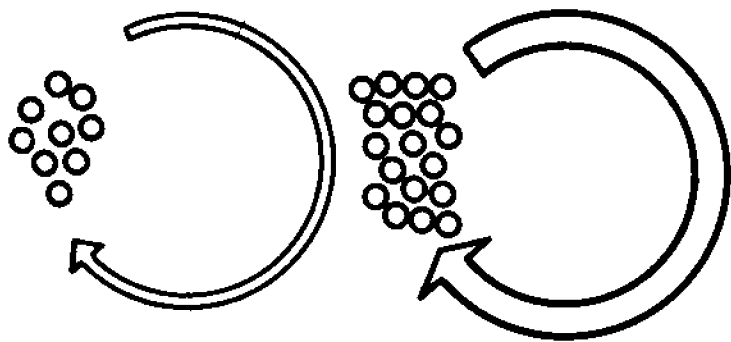
Догма трансформации делает упор на роль отдельной клетки, которой надлежит превратиться в опухолевую под влиянием канцерогена. Из этого логически следует, что изолированные клетки в культуре ткани *in vitro* также могут быть трансформированы канцерогенами.

Однако клетки высшего организма — члены высокоорганизованного сообщества и потому подвержены воздействию регуляторных сигналов, направленных на поддержание этого сообщества.

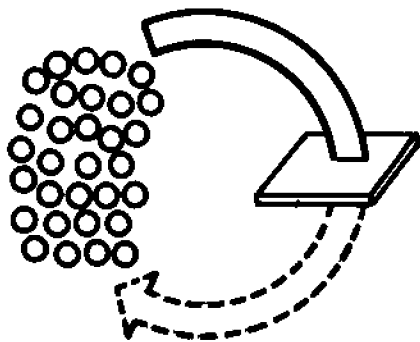
Догма изоляции рассматривает формирование опухолевой клетки с учетом влияния регуляторного поля целостного организма. Иными словами: «Если клетки изолированы от регулятора сигналов роста, то их реакцией на это будет неопластический рост» (см. рис. 48).

Для большей наглядности рассмотрим эту концепцию в мысленном эксперименте: печень после удаления какой-то ее части находится в процессе восстановления. В современных теориях регенерации печени упор делается на некие вещества, регулирующие рост этого органа; они вырабатываются самими клетками печени и тормозят деление клеток, как только орган достигнет первоначальных размеров. Часть печени, оставшаяся после удаления, вырабатывает этот ингибитор в меньших количествах, а потому ингибирующее действие на каждую клетку соответственно ослабевает: оставшиеся клетки печени могут делиться до тех пор, пока их число не достигнет исходного уровня. Такое

количество клеток печени будет производить достаточно «печеночного» ингибитора («халона»), и деление клеток приостановится.



В случае если поток информации в этом регуляторном цикле (клетки печени — ингибитор) где-то прерывается, регенерация печени будет идти без остановки. В результате возникнет гепатома, хотя и довольно своеобразная: она будет состоять из совершенно нормальных клеток печени.



Однако рассмотренный пример — всего лишь мысленный эксперимент, ибо пока не удалось обнаружить канцерогена, который, специфически реагируя с циркулирующими регуляторами роста, смог бы экранировать ту или иную ткань от регулятора. Не исключено, что саркомы, возникающие в случае помещения в ткань полимерной пленки, имеют какое-то отношение к подобному механизму: пленки, по-видимому, просто предотвращают обмен регуляторными веществами.

Оппенхаймер заворачивал почки крысы в целлофан или имплантировал целлофановую пленку подкожно. Оказалось, что имеет значение, каким именно образом имплантирован целлофан: небольшие полоски этого материала с грубой поверхностью сарком не вызывали. Это позволило сделать вывод, что опухоль индуцируется не самим веществом, а «прерыванием токов» в ткани, которое оно вызывает.

Канцерогенным оказался не только целлофан. Целый ряд синтетических веществ (полиэтилен, поливинил, нейлон и т. д.) также обладает способностью индуцировать саркомы; аналогичные свойства проявляют и природные поли-

меры — рога, пергамент, слоновая кость, если их имплантировать подкожно в виде гладких дисков (Друкри, Шмель и др.).

Разумеется, пластические материалы не остаются под кожей совершенно инертными. Используя метод радиоактивных изотопов, можно продемонстрировать постоянный распад пластмасс. Однако все же больше данных свидетельствует в пользу физического, а не химического механизма индуцирования сарком. Вместе с тем вопрос о том, смещается «равновесие халонов» или нет, остается спорным.

Окружая пластиковый диск или пленку капсулой из соединительной ткани, организм изолирует их и создает как бы «экологическую нишу». По существу внутри капсулы действует закон «экстратерриториальности»: здесь могут приживаться даже клеточные имплантаты, которые в другом месте были бы отторгнуты. Защитная капсула прикрывает трансплантируемые клетки от атаки враждебно настроенных лимфоцитов.

Рассмотрим другой пример, где изоляция и защита, очевидно, играют решающую роль в канцерогенезе. Шелтон с соавторами помещал ткань зародыша мыши в камеру с миллиметровыми стенками (полупроницаемыми для частиц меньшего размера, чем целые клетки). Такие камеры затем имплантировали в брюшную полость животного (разумеется, того же штамма) и через 14 мес. удаляли. Эмбриональную ткань вынимали из капсул и вновь инъецировали мышам того же штамма; в результате у подопытных животных образовывались саркомы.

И здесь причиной канцерогенеза, судя по всему, послужила изоляция, в данном случае, вероятно, изоляция от действия механизмов клеточной защиты. Лимфоциты, которые в норме «расправились» бы с небольшим количеством опухолевых клеток, не могли попасть внутрь миллиметровых камер. Правда, вопрос о том, не имелись ли в эмбриональной ткани потенциальные опухолевые клетки и не возникли ли они в результате «перенаселенности», до сих пор не нашел ответа. Мы вынуждены только признать, что канцерогенные агенты вовсе не обязательно должны превращать нормальные клетки в опухолевые, которые тотчас сбрасывают с себя «путы регуляции». Очевидно, в данном случае решающим оказывается не прямое действие, которое выводит из строя защитные контрольные механизмы

без прямой атаки на клетки, подлежащие трансформации.

В этой связи следует также отметить подавление иммунных механизмов: канцерогенные агенты поражают иммунную систему, и потому у преформированных или заново сформированных опухолевых клеток появляется бóльшая возможность выжить. Экранирующее действие миллипоровой камеры в какой-то мере имитирует общее ослабление системы лимфоцитарной защиты.

Наконец, рассмотрим пример, когда опухоль индуцируется путем изоляции клеток. Яичники можно пересадить в селезенку. В таких, если позволительно выразиться, «селезеночных яичниках» прежде всего развивается гиперплазия, а затем и опухоли яичников. Особую опасность представляет помещение нормальной ткани в ненормальное место.

В патологической анатомии известны аналогичные случаи: участки слизистой оболочки желудка могут попасть в пищевод. Такая «дистопическая ткань» также обнаруживает склонность к формированию опухолей. Очевидно, слизистая желудка в «диаспоре» выпадает из поля действия регуляторных сигналов в материнской ткани.

Развитие опухолей из «селезеночных яичников» зависит от функции гормонов: так, эстроген, вырабатываемый нормальными яичниками, регулирует секрецию гонадотропного гормона (ГТГ) гипофизом; в свою очередь ГТГ стимулирует деление клеток яичников. Низкий уровень эстрогена вызывает интенсивную секрецию ГТГ, и наоборот.

Гормон, вырабатываемый «селезеночными яичниками», попадает в печень, разрушается и не достигает гипофиза. Следовательно, гипофиз «думает», что клеток яичника недостаточно; он начинает непрерывно секретировать ГТГ, и тем самым «селезеночные яичники» постоянно принуждаются к дальнейшему росту.

Приживление при пересадке не является критерием, определяющим опухоль

Истинную опухоль можно пересадить. Ни одна из опухолей, появление которых обусловлено исключительно выходом из строя регуляторных механизмов целостного организма, к истинным не относится; если такую опухоль

пересадить в новый организм, сохраняющий интактные регуляторные механизмы, она не приживется. Если мы будем строго следовать этому правилу, то под приведенное выше определение не попадут опухоли типа опухолей яичников в селезенке. Однако критерий «трансплантируемости» в свою очередь трудно применить к опухолям, которые отключились от регуляторного поля организма по собственной «инициативе». Даже такие «автономные» опухолевые клетки могут прижиться у реципиента лишь в том случае, если между ним и донором существует иммунологическая близость и если сами клетки не вызывают слишком сильной иммунной опухолеспецифической реакции. Другими словами, правило, строго ограничивающее приживание при пересадке, остается в силе. Это значит, что успешное приживание опухоли в первую очередь свидетельствует об иммунологической близости партнеров (опухолевая клетка — реципиент); лишь во вторую очередь опухолевая клетка может рассматриваться как автономная.

Однако сказанным еще не исчерпывается проблема трансплантируемости опухолей как проверки на автономность. Попробуем сравнить три тесно связанных между собой примера трансплантаций:

1. В случае удачного сочетания донора и реципиента пересаженная почка растет и нормально функционирует в новом организме.

2. Изолированные клетки почки, пересаженные сингенному хозяину, не растут.

3. Изолированные клетки из опухоли почки могут быть успешно трансплантированы. Они растут и образуют трехмерные ткани, напоминающие ткань почки, с собственной сосудистой системой, поддерживающей и защищающей капсулой. Капсула и кровеносные сосуды вырабатываются хозяином в соответствии с потребностями растущей опухоли.

По-видимому, этот «организационный талант» необходим для решения вопроса о том, приживется опухолевая клетка после трансплантации или нет. Клетки способны избегать действия всех регуляторных систем роста, и все же не следует ожидать, что они окажутся способными приживаться во всех случаях пересадок.

Догма необратимости

Эта догма утверждает: «Опухолевая клетка, однажды вступив на путь анархии, уже не в состоянии возвратиться на путь гражданской добродетели». Ее можно уничтожить или обезвредить, но она никогда не станет вновь нормальной клеткой.

Длительный клинический опыт отдает предпочтение скорее радикальным методам терапии, нежели возможности самоизлечения. Это правило вновь и вновь доказывают миллионы опухолей у животных. Оно стало одной из основ мутационной теории рака, поскольку необратимые изменения могут быть объяснены только мутациями.

Однако сторонники догмы необратимости сталкиваются, пусть с робкими, возражениями: подавляющее число опухолей имеет необратимый характер, но есть несколько примеров обратимых опухолей, и именно сам факт их существования пробивает брешь в установившихся схемах и дает пищу для размышлений.

На примере опухолей растений А. Браун продемонстрировал, что опухоль можно заставить вернуться в исходное нормальное положение. Ученый использовал тератомы табака — медленно растущие опухоли, которые растут на простых, искусственных средах, могут быть пересажены и после пересадки сохраняют способность образовывать структуры, напоминающие почки и листья.

Небольшой кусочек тератомы табака пересаживали на срезанный стебель здорового растения. В процессе роста опухоль вырабатывала аморфную ткань, а также аномальные листья и почки. Если же кусочки таких разрастаний перевивали вновь, то через несколько пассажей можно было наблюдать развитие нормальных листьев и почек и даже цветков. В конце концов исследователи получали семена, из которых вырастали полностью «выздоровевшие» растения табака.

Австрийские ученые Зайлерн-Ашпанг и Кратохвил (Вена) наблюдали опухоли тритонов, способные к спонтанной регрессии. Опухоли индуцировались метилхолантреном, метастазировали, прорастали в соседние ткани; в итоге животное погибало. Однако у многих животных опухоли переставали расти и превращались в нормальные дифференцированные клетки. Опухоли, развивавшиеся на культе хвоста, с особой легкостью подвергались «обратному раз-

витию», если регенерация этой части тела была обусловлена частичной ампутацией хвоста.

Не исключено, что обратимость опухоли тритонов тесно связана с их ярко выраженной способностью к регенерации тканей. Но было бы, пожалуй, неоправданным пессимизмом рассматривать такие обратимые опухоли лишь как явление из ряда вон выходящее. Рассмотрим еще одну опухоль, встречающуюся у млекопитающих.

Так называемые тератокарциномы встречаются как у мышей, так и у людей. Это опухоли, которые состоят из костей, хряща и нервных клеток, могут также содержать волосяные фолликулы, основу для зубов и др. Помимо специализированных клеток, в тератокарциномах встречаются также «эмбриональные», недифференцированные опухолевые клетки. Все эти различные клетки растут хаотично, дифференцированные попеременно с недифференцированными. Тератокарциному можно пересадить от мыши к мыши; носители опухоли погибают через две-три недели.

Кляйнсмит и Пирс задались вопросом: нельзя ли получить весь спектр тератомы путем пересадки любого из отдельных типов клеток. Оказалось достаточным трансплантировать недифференцированные клетки, а уже из них могли развиваться все прочие типы. Здесь также оказался возможным переход недифференцированных злокачественных опухолевых клеток в клетки дифференцированные. И хотя регрессии в приведенном примере не наблюдалось, он показывает, что специализированные «нормальные» клетки вполне могут возникать из «эмбриональных» опухолевых клеток.

Допустим, что случай с тератокарциномой несколько запутан, но ведь подобные превращения наблюдались иногда и в случаях других опухолевых клеток у высших организмов. Клетки нейробластом могут утрачивать свою недифференцированность после нескольких пассажей в культуре ткани и все более приближаться к нормальным нервным клеткам. Это особенно удивительно, если учесть, что в культуре опухолевые клетки обычно становятся более злокачественными; при культивировании даже нормальные клетки подчас сами собой превращаются в опухолевые.

Захс недавно сообщил о трансформированных вирусом полиомы клетках хомячка: большинство из них подверглось обратному развитию, потеряло свою вирулентность и даже стало вновь «полностью нормальным». Подобное

обратное развитие может быть вызвано изменениями условий культивирования (низкая плотность клеток в культуре и т. д.). Геном вируса в таких клетках не исчезает, однако в них имеется больше хромосом, чем в исходных трансформированных клетках. Подобные наблюдения наводят на мысль, что избыточные хромосомы ставших нормальными клеток сдерживают геном вируса. Это предположение подтверждается экспериментами, выполненными Поллаком: ему также удалось выделить «нормальные» клетки, контактно заторможенные, из опухолевых клеток, трансформированных вирусом SV 40-3T3; и эти ревертанты также имели избыточные хромосомы.

Захс воспользовался данными Поллака для обоснования предположения о необходимости наличия двух типов хромосом — одного для экспрессии (выражения) злокачественности, другого для ее супрессии (подавления). В нормальной клетке оба типа хромосом сбалансированы; в опухолевой клетке влияние экспрессионного типа преобладает. При добавлении хромосом супрессионного типа из опухолевых клеток вновь могут возникать «нормальные».

Исследования, проведенные Харрисом на гибридах клеток, хорошо вписываются в эту концепцию: при слиянии злокачественных и нормальных клеток получались гибриды, которые теряли способность к опухолевому росту и соответственно содержали большее число хромосом, чем исходные клетки.

Обратимые опухоли растений, регрессирующие раки тритонов, дифференцировка эмбриональных опухолевых клеток в тератокарциномах и нервных клеток в культуре свидетельствуют против допущения о том, что различия между опухолевыми и нормальными клетками обусловлены мутацией генетического материала.

«Имеющиеся данные говорят скорее о том, что происходят лишь изменения в экспрессии генетических потенций клетки. Клетки опухоли корончатого галла сохраняют все факторы, генетические и негенетические, которые были характерны для нормальных клеток; ничто не утрачено и не подвергалось перестройке. Клетки стали опухолевыми просто в результате активации некоторых генов, которые в нормальных условиях пассивны; клетки возвратились к нормальному состоянию, когда эти гены вновь были подавлены и утратили свою функциональную способность» (Браун).

Свидетельства дерепрессии (правда, без указаний на обратимость) были также получены Болдуином на гепатомах крысы, индуцированных азокрасителями. В этих опухолях

ученому удалось обнаружить антиген, идентичный (как было показано иммуногистохимическими методами) антигену нормального легкого крысы. И наконец, Пито и Хайдельбергер разработали остроумную модель регуляторной системы, с помощью которой показали, как химический канцероген может вызывать наследственные изменения без мутации генетического материала. Они также продемонстрировали, каким образом наследуемые изменения могут ревертировать (возвращаться) к норме.

Однако обратимость еще не означает, что отдельная клетка также подвергается обратному развитию. Хайджер уже давно отметил, что «обратимыми являются лишь изменения в ткани; сведений же о том, что и отдельные клетки могут находиться в состоянии обратимого равновесия, нет». В обратимых опухолях нормальные клетки могут просто постепенно замещать опухолевые клетки.

Догма репрограммированной опухолевой клетки

Все клетки высшего организма в конечном итоге развиваются из одной-единственной клетки — оплодотворенного яйца, которое возникает при слиянии женской яйцеклетки с мужским спермием.

Из этой клетки в результате делений образуются мириады соматических клеток; на протяжении длительного процесса дифференцировки они становятся клетками почки, нервными клетками, клетками печени, соединительной ткани. Наследственный материал передается дочерним клеткам при каждом делении; таким образом, в каждой соматической клетке имеется тот же наследственный материал и даже та же ДНК, что и в оплодотворенной яйцеклетке.

Ботаники знают об этом давно. Если часть листа табака поместить на питательную среду, то лист пустит белые корешки, а впоследствии из него может сформироваться и целое растение. У растений культивирование потомства из дифференцированных соматических клеток не является чем-то необычным. По самой своей природе клетки растений часто остаются «мультипотентными» и в случае «чрезвычайного положения» сохраняют способность воспользоваться всем запасом наследственной информации.

Лишь недавно удалось продемонстрировать, что и соматические клетки животных имеют в своем распоряжении весь геном яйцеклетки. Цитогенетики уже давным-давно

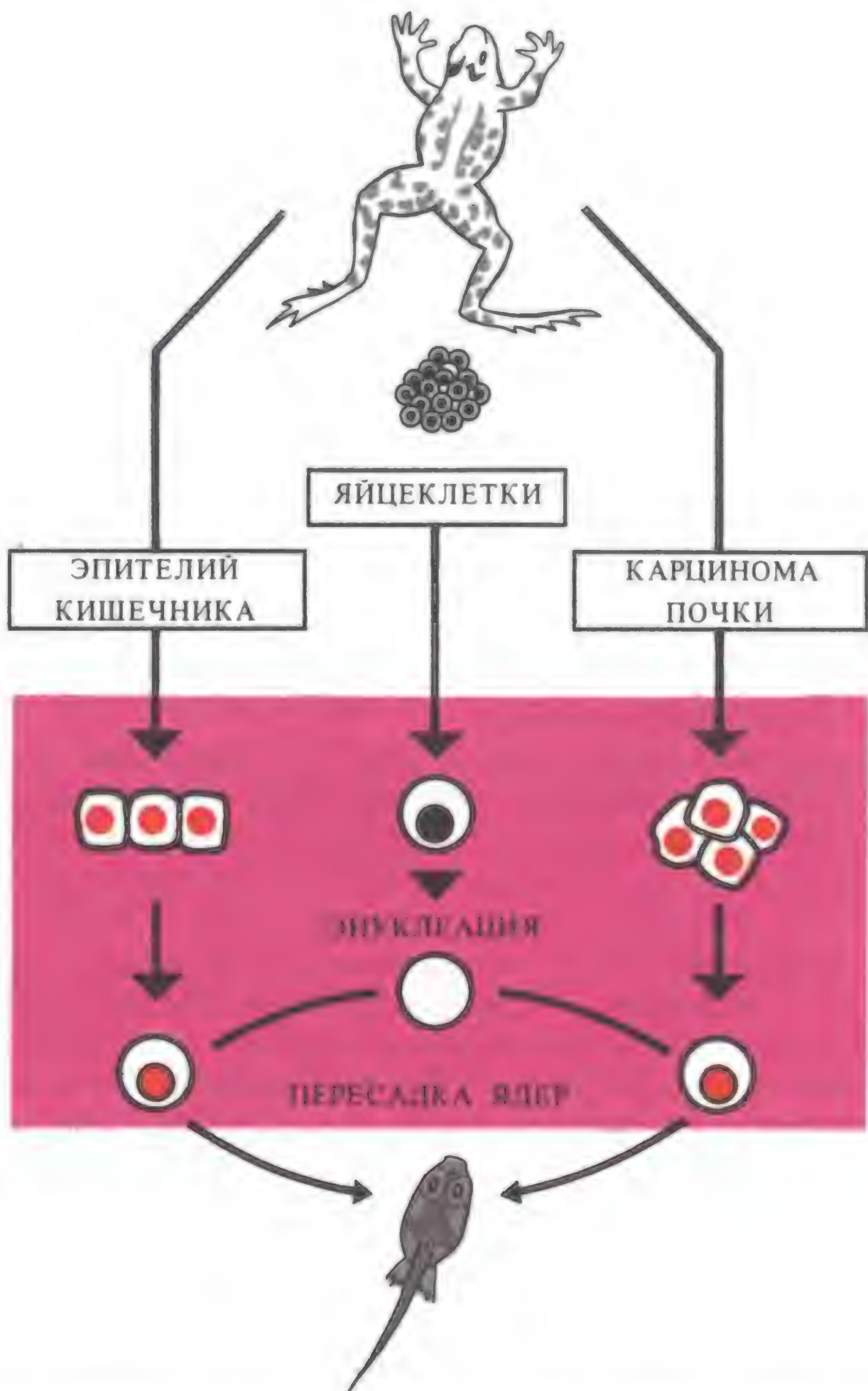
утверждали, что наследственный материал яйца не растрачивается, а тщательно копируется дочерними клетками, но убедительных доказательств не приводили.

Гёрдон из Оксфордского университета попытался это доказать: с этой целью он удалил ядро из клетки кишечного эпителия лягушки и пересадил его в яйцеклетку лягушки того же вида. Ядро яйцеклетки было удалено путем «умерщвления» его под микроскопом направленным облучением. Операции подобного типа могут быть выполнены только при овладении тончайшими хирургическими методами. Яйцеклетки лягушки с ядрами из эпителия кишечника развивались до нормальных головастиков, а затем и до нормальных лягушек. Таким образом, было доказано, что соматические клетки высших организмов сохраняют весь генетический материал зиготы (фиг. 49).

Из этого следует, что клетка печени или нервная клетка использует имеющуюся в ядре генетическую информацию лишь частично. Остальная часть генома не проявляет себя. Можно говорить о репрессии, характерной для каждого типа клеток: в каждой клетке определенная информация, то есть участки ДНК, должна оставаться раскрытой и «считываться». Этот раскрытый материал определяет программу, уникальную для каждого типа клеток — для мышечных клеток, клеток паренхимы печени или базальных клеток эпидермиса. На пути от яйцеклетки до клетки кишечного эпителия мутаций не происходит; в противном случае из ядер клеток кишечного эпителия не удалось бы вывести нормальных лягушек.

После этих предварительных замечаний мы можем теперь попытаться сформулировать еще одну догму индуцирования опухолей — догму ложно запрограммированной опухолевой клетки: «В принципе различия между нормальной и опухолевой клетками можно уподобить различиям, существующим между клеткой паренхимы печени и нервной клеткой». Новая программа опухолевой клетки должна быть достаточно жесткой, чтобы гарантировать, как правило, образование лишь новых опухолевых клеток. Однако она не должна быть настолько жесткой, чтобы исключить обратное развитие, то есть новое изменение программы.

Догма «репрограммированной опухолевой клетки» также позволяет дать правдоподобное объяснение канцерогенезу: канцероген должен быть веществом, способным из-



„ОМНИПОТЕНЦИЯ“ ЯДЕР ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК

менять характер репрессии,— веществом, способным «сместить» гистоны, экранирующие ДНК, и тем самым вызвать к жизни новую программу. При этом опасность «перелета через цель» и прямого попадания в ДНК должна быть немалой. Именно реакции, возникающие в результате подобного «перелета через цель», и объясняют мутагенные и токсические эффекты канцерогенов.

Как мы имели возможность убедиться, для трансформации нормальных клеток в опухолевые необходимы деления клеток (и в первую очередь синтез ДНК). Новая догма легко объясняет этот феномен: при каждом делении, точнее, при каждом удвоении ДНК дифференцированной клетки должен также копироваться и характер репрессии. Следовательно, синтез ДНК представляет собой «опасную фазу» для правильной передачи подробных указаний, определяющих, какие из участков ДНК будут оставаться активными, а какие должны инактивироваться («характер распределения гистонов»). Тесная связь между канцерогенезом и синтезом ДНК хорошо «вписывается» в концепцию репрограммированной опухолевой клетки.

В обозримом будущем эту догму, быть может, удастся подвергнуть решающему эксперименту. Если допустить, что генетический материал в опухолевой клетке остается незатронутым, то пересадка ядра опухолевой клетки в яйцеклетку должна вести к развитию нормального зародыша. Возможно, этот эксперимент не удастся с первой попытки. Возможно, ядро опухолевой клетки придется несколько раз пересаживать в новые яйцеклетки, прежде чем оно вновь «нормализуется». Первые эксперименты в этом направлении уже проведены, и на них мы остановимся ниже (стр. 306).

В экспериментах Гёрдона цитоплазма яйцеклетки играла важную роль. Под ее влиянием используется вся информация, содержащаяся в дифференцированном ядре, и все «начинается с начала». Почему бы «неопластической цитоплазме» также не заставить ядро стать ядром опухолевой клетки и почему бы нормальной цитоплазме не вернуть ядро опухоли к норме? Догма репрограммированной опухолевой клетки приписывает цитоплазме решающую роль в контрольных механизмах. В таком «демократическом обмене мнениями» между ядром и цитоплазмой вырабатывается общий курс развития клетки.

Заключение

Многие основные проблемы экспериментальных исследований опухолей все еще требуют догматического подхода.

До сих пор не выяснено окончательно:

а) может ли нормальная клетка непосредственно превращаться в опухолевую (*трансформироваться*);

б) могут ли преформированные опухолевые клетки просто подвергаться *селекции*;

в) могут ли соматические клетки просто *ускользнуть* из поля нормальной ростовой регуляции.

Обнаружение способных к обратному развитию опухолей заставляет нас усомниться в справедливости положения о том, что канцерогенез — это «дорога в один конец». Догма репрограммированной опухолевой клетки позволяет уподобить различия между клеткой гепатомы и клеткой печени различиям между клеткой печени и клеткой почки. Новая программа включает в себя утрату прежних способностей, а также приобретение новых.

Не все опухоли растут быстрее нормальных тканей. Иногда популяция клеток в опухолевой ткани растет за счет того, что клетки как бы «забывают» умереть.

Воображаемая беседа

*Теория без эксперимента слепа.
Эксперимент без теории нем.*

«Идеи, подобно людям, рождаются, переживают приключения и умирают», — написал однажды историк науки У. П. Д. Уитманн. Не считаете ли вы, что эти слова применимы и ко многим теориям рака, обсуждаемым в последние годы?

Следует начать с того, что в действительности ни одна из теорий рака не отжила свой век. Экспериментальная онкология — наука молодая, поэтому в нашем распоряжении большой выбор заслуживающих внимания теорий, которые и по сей день находятся в самом расцвете сил. Онкологи, придерживающиеся самых различных взглядов, гипотез и точек зрения, составляют весьма пестрое общество.

Можете ли вы привести пример какой-либо старой, но все еще активной теории рака?

Довольно своеобразным примером может служить «кариогамная теория рака» Галлиона (1907). Галлион усматривал причину рака в слиянии клеток ткани с подвижными клетками, такими, как лейкоциты или даже бактерии.

В результате такой анархической акции клетки ускользают от закона, в рамках которого должно проходить их нормальное развитие. Ничто не в состоянии вызвать столь существенные нарушения общего плана развития клеток, как непредусмотренное и несоответствующее оплодотворение, нарушающее процесс нормального развития зародышевых клеток. Тем самым разрывается пакт, определяющий «социальное» поведение клеток, и зарождающаяся в результате этого анархического акта независимая линия клеток становится неуправляемой — верный признак незаконного происхождения.

В этой формулировке чувствуется характерное викторианское осуждение «аморальной жизни клеток», однако никаких доказательств подобного «прелюбодеяния» получено не было. Правда, по прошествии пятидесяти с лишним лет исчезли всякие сомнения в возможности «противоестественного совокупления» между клетками ткани и чужеродным генетическим материалом, а также в том, что именно этот акт и ведет к развитию клеток рака.

Вы имеете в виду опухолевые вирусы?

Совершенно верно. Здесь партнер мужского пола, если так можно выразиться, полностью редуцирован до обнаженной хромосомы, даже до обнаженной нуклеиновой кислоты. Но и в этом случае в точном соответствии с естественным оплодотворением происходит слияние наследственного материала.

Существуют ли методы, позволяющие вызвать искусственное слияние клеток?

Да. Настоящие гибриды клеток можно получить при использовании убитого вируса Сендай. Весьма вероятно, что в ближайшем будущем теория Галлиона получит подтверждение.

Мы уже достаточно углубились в детали. Нельзя ли начать дискуссию с простого вопроса: что такое рак?

Вряд ли это можно назвать простым вопросом. Более того, вряд ли это нужный вопрос. Многие исследователи полагают, что «рак связан с нарушением основного механизма самой жизни» (Оберлинг). Но это означает, что, прежде чем мы поймем, что такое рак, следует выяснить, что такое жизнь. «Загадка рака», по-видимому, спрятана глубоко, однако едва ли это может служить поводом для пессимизма. И хотя сегодня еще никто по-настоящему не знает, что же такое, собственно говоря, есть жизнь, за последние десятилетия нам удалось выяснить больше подробностей о живых системах, чем за все минувшие века. Экспериментальной онкологии следует перенять успешный опыт современной биологии: отбросить общие определения и вместо них поставить простые вопросы, которые могут быть разрешены опытным путем.

Вы полагаете, что экспериментальная онкология должна избегать теорий и гипотез?

Совсем наоборот. «Наблюдение всегда остается наблюдением в свете теорий» (Поппер), и результаты биохимических анализов и морфологические описания опухолевого материала без теоретического обоснования не имеют ровно никакой ценности. «Научные высказывания представляют собой не простое обобщение полученных данных, а формируются в виде гипотез» (Бирвиш).

Какую теорию возникновения опухолей вы предпочитаете: химическую, вирусную или радиационную?

К сожалению, ни одну из них нельзя назвать теорией в подлинном смысле этого слова. Я согласен с вами, что патологи иногда говорят о химической теории возникновения рака, однако им эта проблема видится из прозекторской или операционной. Они пытаются дать объяснение опухоли, на возникновение которой не могут повлиять. Для них опухоль не что иное, как криминалистическая проблема, между тем как так называемая «химическая теория рака» лишь описывает возможность появления отдельной опухоли. Благодаря этому из анонимной массы «спонтанных опухолей», таких, как опухоли, возникающие в результате облучения у рабочих урановых рудников или радиологов, удастся выделить «химический профессиональный рак».

Напротив, экспериментальная онкология просто по определению не может признать спонтанных опухолей; опухоли, которые иногда возникают спонтанно, лишь вызывают досаду. Онкологи-экспериментаторы владеют целым набором методов, позволяющих вызвать опухоли; в этом смысле надо говорить не о химической теории опухолей, а о химических приемах индуцирования опухолей. То же относится и к так называемой вирусной теории: вирусологи располагают точной информацией о том, какие вирусы и на каких животных способны вызывать опухоли. Следовательно, опухолевые вирусы являются *не теоретической предпосылкой, а орудием эксперимента*. А вот каким образом опухолевые вирусы превращают нормальную клетку в опухолевую — это уже предмет теории. Существуют также теории о том, как химические канцерогены приводят к появлению опухолей.

Что можно ожидать от «подлинной» теории рака?

Мы можем вновь процитировать Варбурга: «Подобно тому как заболевание чумой обусловлено совокупностью, казалось бы, не связанных друг с другом факторов (жарой, наличием насекомых и крыс), но вызывается одной лишь причиной — бациллой чумы, возникновение рака связано с целым рядом факторов. Этот процесс вызывают каменноугольная смола и облучение, мышьяк и низкое парциальное давление кислорода в клетках, уретан и песок. Но непосредственной причиной, к которой ведут все прочие перечисленные факторы, является необратимое нарушение дыхания клеток».

Разумеется, сегодня наши формулировки не были бы столь безапелляционными и в более осторожных выражениях мы могли бы говорить лишь о возможности существования общей причины рака. Но «подлинная» теория рака должна дать нам описание природы этой общей причины.

Включаете ли вы сюда и информационную гипотезу рака, согласно которой рак представляет собой нарушение потока и содержания информации?

В данном случае нельзя даже говорить о теории; это всего лишь классическое определение опухолевой клетки в современной терминологии. Следовательно, информационная гипотеза не может быть ложной, тогда как «подлинная» теория должна заключать в себе возможность ошибки.

Как, по-вашему, теория раздражения Вирхова могла бы стать такой подлинной теорией рака?

Разумеется, поскольку она пыталась свести все множество причин к общему знаменателю, но неудачно. Этим общим знаменателем было хроническое раздражение: радиационный рак возникает после хронического воспаления (радиационный дерматит), а раку печени часто сопутствует цирроз. Практика патологической анатомии дает немало таких примеров.

В ответ на постоянное раздражение в ткани срабатывают компенсаторные механизмы, в которых важная роль отводится регенеративным процессам и возросшей скорости деления клеток. Сначала регенерация находится под контролем. Однако наряду с развитием все быстрее

растущих клеточных линий развиваются и «истинные» раковые клетки.

Вирхов пришел к такому заключению на основе клинических наблюдений, и эти выводы впоследствии (на первых порах) получили блестящее экспериментальное подтверждение: успех Ямагивы в индуцировании карциномы уха кролика каменноугольной смолой явился примером практического применения теории раздражения Вирхова.

Но вскоре возникли трудности?

Да. Раздражение и канцерогенные эффекты далеко не всегда коррелировали друг с другом, а кроме того, простое раздражение отнюдь не всегда вело к развитию сарком. 3,4-Бензпирен и 1,2-бензпирен оказывают примерно одинаковое, раздражающее действие. Однако лишь первое соединение является канцерогенным. Другой пример: возможно индуцирование гепатом без предшествующего цирроза, если животным скармливать диэтилнитрозамин в достаточно малых дозах.

И все же теория Вирхова была верна в исходном положении: рак может быть вызван (внешним) воздействием, и не столь существенно, будут на первых этапах формирования опухоли проявляться воспалительные реакции или нет.

Но если понятие «раздражение» толковать в более широком смысле, под это определение может подойти все, включая даже опухолевые вирусы, и в этом смысле теорию Вирхова нельзя назвать ошибочной.

Здесь следует быть осторожным: опухоли генетического происхождения не вписываются в концепцию раздражения. Мы уже видели, что некоторые опухоли, особенно у определенных штаммов мышей, возникают с удивительной закономерностью. Для появления рака вовсе не требуется раздражения; если сформулировать это иначе, оберегаться раздражения бесполезно: анархия «запланирована» уже в оплодотворенном яйце.

То же относится и к экспериментально индуцированным опухолям у гибридов близкородственных видов.

Вы имеете в виду гибриды меченосцев, погибающих от меланом?

Вот именно. В данном случае простое добавление чужого генетического материала влияет на нормальный ход развития. Но это возможно не только у рыб. Вы, верно, помните, что у гибридов различных видов табака также могут возникать опухоли.

Вы говорите о скрещивании между Nicotiana langsdorffii и N. glauca?

Да. Тут, по-видимому, применим простой принцип: *N. glauca* принадлежит к однолетним растениям, «рассчитанным» на быстрый рост; *N. langsdorffii* — многолетнее, несколько «заторможенное» растение, «рассчитанное» скорее на стабильность, чем на быстрый рост. У гибридов же мы наблюдаем столкновение между стабильностью и ростом. Разумеется, это лишь общие рассуждения, однако и здесь генетический анализ в конечном итоге, очевидно, приведет к рассмотрению репрессорных систем, как и в случае с гибридами меченосцев.

Имеются ли другие исключения из теории раздражения Вирхова?

Исключения, как можно полагать, составляют также так называемые дизонтогенные опухоли — любопытная смесь нормальных тканей, где можно найти и зубы, и волосы, и кожу (тератомы). В нескольких случаях наблюдалось формирование рудиментарных голов с мозгом или без такового; там же можно было найти и ноги, даже с пальцами и ногтями («паразитический плод»). Если принять за исходный пункт предположение о «неудачливом брате близнеце», то можно прийти к сложным случаям двойного формирования, ведущим к сямским близнецам, а затем и к обычным идентичным близнецам. В соответствии с этим объяснением опухоль можно также считать «несчастливым и дегенеративным родственником» (по выражению Оберлинга) хозяина.

В своей эмбриональной теории развития опухоли Конгейм даже рассматривал раковые клетки в качестве рассеянных по организму эмбриональных клеток, развитие которых по каким-то причинам приостановилось...

...но которые сохранили потенции роста...

Верно. Во взрослом организме силы, направляющие и формирующие растущий плод, прекращают свое действие, и катастрофа может не заставить себя ждать.

Имеются ли эксперименты, подтверждающие эту теорию?

Индуктирование экспериментальных опухолей имплантацией эмбриональной ткани не дало убедительных доказательств. Правда, при «варьирующих повреждениях» яйцеклеток у лягушек развивались тератомы, опухоли и даже двойные монстры. По-видимому, здесь для дизонтогенного роста требуется индуцирующий стимул.

А это возвращает нас назад, к Вирхову. Попробуем еще раз взглянуть на краткий перечень воздействий, вызывающих рак (табл. 6). Удивительно, как много различных и даже противоположных факторов индуцируют опухоли.

Поражает само многообразие химических канцерогенов, однако делать вывод о том, что большинство веществ в большей или меньшей степени канцерогенно, было бы не верно. Достаточно незначительного изменения в молекуле канцерогена, чтобы лишить ее онкогенных свойств. Выявлены строгие правила, регулирующие канцерогенность в целой серии близкородственных соединений (ср. 3,4-бензпирен и 1,2-бензпирен), но они сохраняют свою силу не более чем для одного класса соединений (ср. CHCl_3 , тиомочевину, нафтиламин).

Как, по-вашему, не обречены ли на неудачу поиски общего знаменателя для принципиально различных причин рака?

Вполне допустимо, что каждый канцероген ведет к опухоли «своим собственным путем», поскольку наряду с многообразием канцерогенных воздействий имеет место и разнообразие форм опухолей. Поэтому многие патологи не признают единства всех проявлений злокачественного роста у опухолей.

Но опухолевые клетки должны иметь по крайней мере одно общее свойство: все они ускользают от жесткой

Разнообразие канцерогенов

Химические стимулы	
Органические соединения	Иприты, эпоксиды, пропиолактон Диэтилнитрозамин, N-метил-N-нитрозоуретан β - Нафтиламин, 2-ацетиламинофлуорен, N,N-диметил-4-аминоазобензол 4-Нитрохинолин-N-оксид Тиомочевина, тиацетамид 3,4-Бензпирен, 3-метилхолантрен Стильбестрол, поливинилпирролидон
Естественные продукты	Афлатоксины (из <i>Aspergillus flavus</i>), алкалоиды (из <i>Senecio</i>), циказин
Гормоны	Гормоны передней доли гипофиза
Нуклеиновые кислоты	Опухолевые ДНК-вирусы
Неорганические соединения	Асбест, никелевая пыль, соединения свинца и бериллия
Физические стимулы	
Радияция	Рентгеновское облучение, ультрафиолетовое облучение (⁶⁰ Со, радий)
Механическое раздражение	Раны (только активация?)
Тепло	Хронические ожоги
Полимерные вещества	Металлическая фольга, синтетическая фольга (целлофан и т. п.)
Биологические стимулы	
Паразиты	<i>Bilharzia</i> (опухолевые вирусы?)
Бактерии	<i>B. tumefaccins</i> (опухолевые вирусы?)
Опухолевые вирусы	ДНК-вирусы: полиома, аденовирусы РНК-вирусы: вирус саркомы Рауса, лейкозные вирусы

регуляции роста ткани или организма, независимо от того, чем они были индуцированы — вирусом, химическим канцерогеном или облучением.

Конечно, и поэтому многим рак представляется «довольно единообразным процессом... а единообразие опухолевого процесса заставляет многих думать о единообразии механизмов индукции» (Оберлинг).

Какова же природа этого «единообразия»?

Представим мысленно две модели:

1. Каждый канцерогенный стимул (физический, химический или биологический) «марширует под свою команду», но в конце концов приходит к той же цели в клетке.

2. Необходимо лишь допустить, что в принципе имеется только одна причина, вызывающая рак. Все другие факторы, по-видимому, вызывают рак лишь косвенно или ускоряют его развитие.

Не существует ли в таком случае своего рода иерархии канцерогенных стимулов?

Похоже, что существует. Имеются четкие различия между механизмом действия паразита, который вызывает рак лишь в 5—10% случаев, и механизмом действия канцерогенных нитрозаминов, которые срабатывают в 100% случаев. Однако, помимо выхода опухолей, нельзя не отметить и временные различия: скормливание канцерогенных азокрасителей ведет к образованию гепатом после шестимесячного латентного периода, в то время как при заражении вирусом полиомы рост опухоли начинается немедленно. Точность, с которой срабатывает вирус как канцероген, и скорость образования опухоли свидетельствуют в пользу предположения, что подлинной причиной рака является вирус.

Значит ли это, что рак в принципе заразен?

Вы хотите сказать, что рак не может вызываться вирусами, поскольку он не заразен? В подобном ходе рассуждений кроется принципиальная ошибка.

«Даже инфекционное заболевание не всегда заразно. Герпес на губах или опоясывающий лишай вызываются вирусами, однако они не заразны. Сыпной тиф — одна из опаснейших болезней, поражающих человечество, однако тифозный больной без вшей не более заразен для других, чем больной раком. Большинство возражений против вирусной теории основано на недостаточных знаниях общей вирусологии. Многие просто не могут отказаться от мысли, что патогенные бактерии и вирусы всегда вызывают заболевание, причем немедленно и при любых обстоятельствах. Огромное значение скрытых инфекций и их распространение, как правило, игнорируются» (Оберлинг).

В таком случае может ли, скажем, облучение активировать скрытые вирусы?

Давно известно, что облучение способствует вирусной инфекции: так, *herpes* может активироваться под влиянием солнечных лучей.

Каплан обнаружил, что скрытые опухолевые вирусы также могут активироваться лучами Рентгена. Он облучал мышей линии C57/BL и наблюдал у них развитие лимфом. Бесклеточные экстракты из этих опухолей в свою очередь индуцировали опухоли такого же типа. Более тщательный анализ вирусных лейкозов, вызванных облучением, весьма сложен (следует учитывать факторы селезенки, роль костного мозга), но на основании этих экспериментов все же удалось показать, что: 1) скрытые инфекции возможны и для опухолевых вирусов и 2) классические канцерогенные агенты, такие, как рентгеновское облучение, могут иногда вызывать опухоли через посредника.

Не могут ли и химические канцерогены усиливать некоторые вирусные инфекции?

Безусловно. Дюран-Рейнальс вызывал вспышку оспы у кур путем смазывания кожи метилхолантеном. Подлинный причинный агент, вирус, по-видимому, уже присутствовал в скрытой форме перед активацией.

Не является ли спорным вопрос о том, что химические канцерогены также могут «пробуждать» скрытые опухолевые вирусы?

Сегодня это уже бесспорно. Используя метилхолантеном, уретан и диэтилнитрозамин, Хюбнер и др. смогли

индуцировать лимфомы у мышей. Экстракты из этих лимфом обладали способностью вызывать лейкозы.

Но это лишь отдельное наблюдение, по крайней мере на данный момент.

Да. Причем оно было проведено на том же штамме мышей (C57/BL), у которого «симбиотические» опухолевые вирусы могли быть активированы рентгеновским облучением. Однако все больше данных свидетельствует о том, что скрытые опухолевые вирусы распространены гораздо шире, чем хотелось бы признать онкологам. Вирусологи под электронным микроскопом постоянно наталкиваются на так называемые С-частицы. Очевидно, эти частицы и есть опухолевые вирусы, поскольку такие известные онкогенные вирусы, как лейкозный вирус Гросса и вирус саркомы Рауса, принадлежат к этому же классу.

У животных тех штаммов и видов, которые ранее считались свободными от вирусов, также обнаружались явные признаки антигенов опухолевых вирусов. Среди новых для онкологов животных особо следует отметить кошек, у которых нашли лейкозные вирусы.

Не эти ли вирусы вызывают лейкоз у мышей?

Они принадлежат к тому же типу. Однако это открытие привлекло внимание исследователей не потому, что кошки больше похожи на человека, а потому, что в качестве домашних животных они могут служить важным «фактором среды» в заболеваниях человека. Иногда С-частицы удавалось наблюдать и в опухолях человека.

Но не регулярно.

Это не столь важно; даже по терминологии латентные вирусы не всегда должны быть доступны наблюдению. В недавних экспериментах было показано, что особенно лейкозные вирусы с большой степенью вероятности могут быть полностью погруженными (скрытыми) в другие структуры.

Тодаро с соавторами удалось выделить стабильные линии клеток из зародышей мышей инбредного штамма Balb/c; будучи введены мышам того же штамма, они индуцируют опухоли. Из вполне нормальных клеток

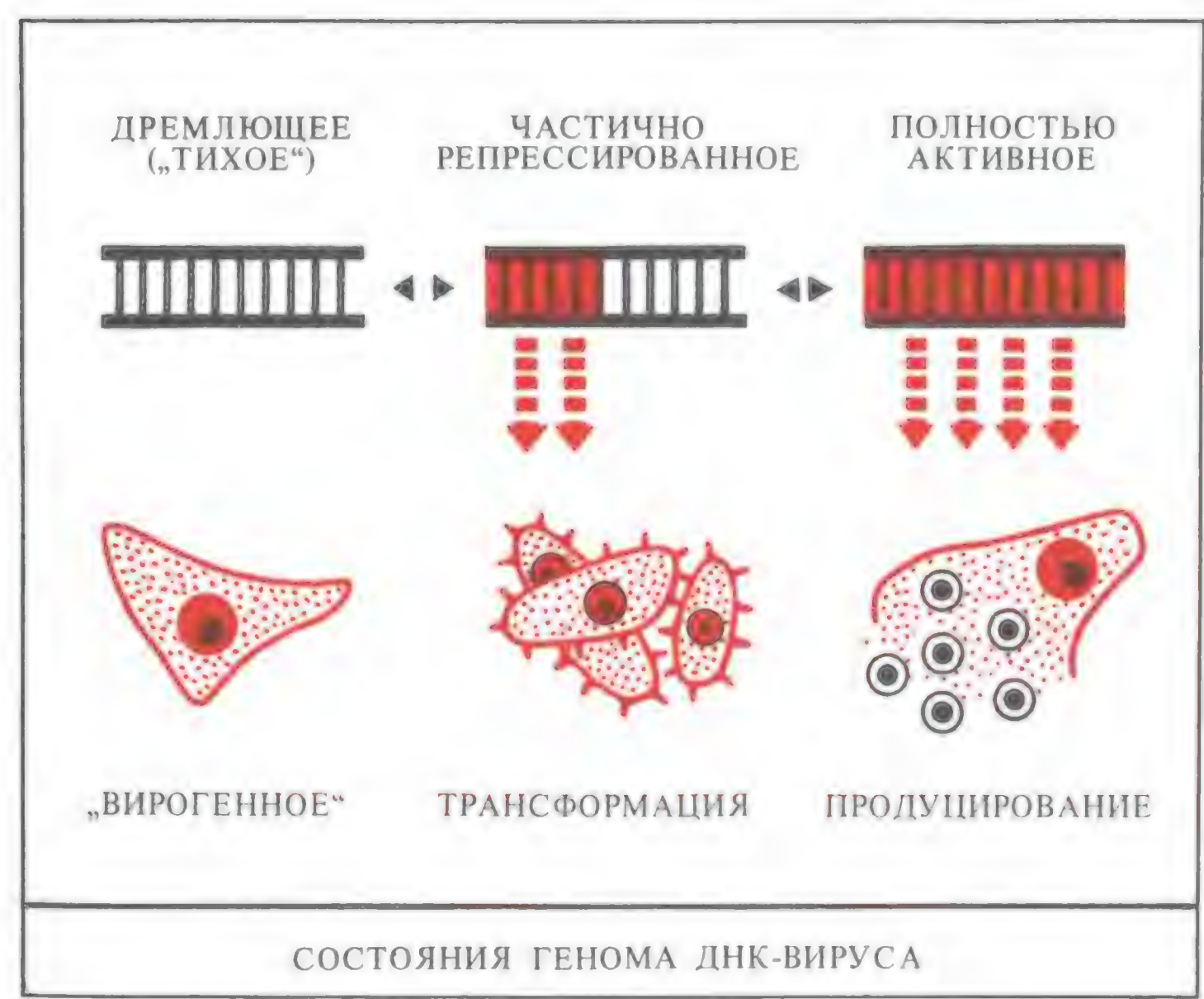
зародыша мыши в результате культивирования (быстрые пассажи при высокой плотности клеток) могут образовываться настоящие опухолевые клетки.

Удивительно не только это. Неоднократно наблюдалось индуцирование злокачественных клеток простым культивированием in vitro.

Удивительным в этом случае было то, что индуцированные *in vitro* опухолевые клетки вырабатывали лейкозный вирус у мышей. По-видимому, культивирование *in vitro* оказывало такой же эффект, как и обработка канцерогеном мышей линии C57/BL: в обоих случаях наблюдалась активация лейкозных вирусов.

Не было ли это простым заражением культуры вирусом?

Случайное заражение культуры лейкозным вирусом исключается. Авторы предпочитают следующее объяснение:



Ф и г. 50.

клетки мышцы содержат информацию лейкозного вируса в полностью репрессированной форме. Таким образом, к феноменологии опухолевых вирусов нам следует добавить понятие полностью «немого» вирусного генома. Хюбнер говорит о «вирогенах», имея в виду, что эти вирусы по существу больше напоминают гены клетки, чем инфекционные агенты. Вероятно, подлинное заражение между клетками не играет особой роли; распространение различных вирусов может происходить полностью скрыто и по вертикали, то есть от материнской клетки к дочерней и соответственно от матери к потомству.

Если я вас правильно понял, общая вирусная теория рака вновь вызывает много толков. Год или два назад картина была совсем иная: преимущество отдавалось аргументам, отрицающим тот факт, что все опухоли в конечном счете вирусного порядка.

Одно из доказательств было получено при изучении опухолей современными иммунологическими методами: химически индуцированные опухоли обладают антигенами, специфичными для каждой отдельной опухоли. Такая антигенная индивидуальность заходит настолько далеко, что даже две опухоли, индуцированные у одного животного, могут обладать различными антигенами. И напротив, опухоли, индуцированные данным вирусом, всегда имеют одинаковые опухолевые антигены.

Как же разрешить эту дилемму?

То обстоятельство, что все опухоли, индуцированные одним и тем же вирусом, обладают одинаковыми антигенами, по существу не столь удивительно; поражает чудовищное разнообразие антигенов «химических» опухолей. Почему бы среди индивидуальных специфических антигенов химически индуцированных опухолей не быть более слабым групповым специфическим антигенам опухолевых вирусов? Разнообразие сильных индивидуальных антигенов в этом случае скрыло бы менее своеобразную индивидуальность слабых вирусных антигенов. Не так давно ученые заговорили об общих «слабых» антигенах в химически индуцированных опухолях.

Итак, разнообразие антигенов химически индуцированных опухолей перестает быть серьезным возражением против общей вирусной теории. Но не сохраняет ли силу аргумент о том, что химический канцерогенез подчиняется точным количественным законам соотношения доза — ответ, которые не имеют никакого отношения к вирусной инфекции?

К вирусной инфекции, но не к активации латентного вируса в клетке, как полагают. Канцерогены и время изменяют, если угодно, части клетки, регулирующие рост; эти «многоударные реакции» мы уже обсуждали. Но не является ли это столь же «утомительным» занятием, как и «выкапывание» латентного вируса?

Значит, в целом вы полагаете, что представление об онкогенности вирусов как о подлинной причине рака заслуживает всеобщего признания и что все другие индуцирующие рак стимулы могут быть сведены в группу активизирующих вирус факторов. Но ведь доказательства этой теории и сегодня остаются столь же скудными, как и ранее, не так ли?

Разумеется, доказательств нет. Однако защитники этой теории всегда полагали, что «трудно предположить, чтобы процессы, в конечном итоге ведущие к одинаковым изменениям клетки, в одном случае вызывались бы изменением собственного генетического материала клетки, а в другом — введением дополнительного генетического материала, который клетка (через вирус) получает извне» (Зильбер).

Научная объективность требует от нас признания возможности и того, что две противоположные причины могут вызывать один и тот же эффект...

Совершенно верно. Генетик сказал бы в данном случае, что различные генотипы могут иметь одинаковое фенотипическое выражение.

Но вернемся к перечню многочисленных причин рака. Не упростилась бы проблема, откажись мы от общего знаменателя?

Разумеется, упростилась бы. Что общего между рентгеновским облучением, азокрасителями, имплантацией пластмасс и вирусом полиомы? Вопрос может быть решен в том случае, если мы примем, что все канцерогенные стимулы лишь способствуют «запуску» процессов, которые клетка может выполнять и без них. Канцерогены как бы дают толчок, а далее клетка действует самостоятельно.

«Объяснение [проблемы рака] следует искать не столько в канцерогенах, сколько в самой клетке», — пишет Леттре. По его мнению, «после воздействия повреждающих факторов, которые, однако, не приводят к ее гибели, клетка имеет весьма ограниченный выбор средств для выживания, и одним из таких возможных средств является превращение в раковую клетку».

Эта идея не нова.

Конечно. Представление о том, что канцерогенные стимулы действительно лишь способствуют высвобождению скрытых потенций, подразумевалось еще в теории раздражения Вирхова: ткань «отвечает» на канцерогенный импульс, и этот ответ подготавливает почву для возникновения опухолевых клеток. Решающее значение имеет не только действие канцерогена, но и реакция клетки. Иными словами, нормальные клетки находятся в неустойчивом равновесии.

Аналогичные соображения мы находим и в теории Варбурга. Согласно этой теории, злокачественное перерождение рассматривается как возвращение к более примитивным формам существования клеток, которые уподобляются примитивным одноклеточным организмам, свободным от «общественных» обязательств. При этом не столь важно, несет ли за такое «антиобщественное поведение» клеток ответственность лишь вновь обретенный гликолиз или же гликолиз — и это уже важнее — является одним из многих параметров, присущих этому «примитивному образу жизни».

Следовательно, раковая клетка не узнает ничего нового? В ней просто возрождаются прежние потенции?

Пожалуй, так. В этой связи часто приходится слышать о «возвращении к эмбриональному типу клеток», который, как известно, отличается бурным ростом.

По существу, опухолевые клетки утрачивают многие функции, характерные для зрелых тканей, и тем самым начинают напоминать эмбриональные ткани, в которых эти функции еще не были выработаны. Помимо утраты специфических функций, в опухолевых клетках могут вновь обнаруживаться давно забытые эмбриональные признаки. Не раз появлялись сообщения о «новых опухолевых антигенах», которые оказались не чем иным, как эмбриональными антигенами, воспоминанием о временах бурных клеточных делений.

Правда, поверхностное сходство с эмбриональными клетками не должно завести нас столь далеко, чтобы мы вынуждены были признать и принципиальное сходство между ними. Фоулдс недвусмысленно предупреждал против этого: „Между эмбриональными и «анапластическими» неопластическими клетками такое же сходство, как между ребенком и старым маразматиком, впавшим в детство: в одном случае потенции еще не развиты, в другом они уже утрачены навсегда”.

Но некоторое сходство все же существует — частые клеточные деления и отказ от выполнения специфических функций. В основе многих теорий рака лежит представление о том, что клетки, подобно маятнику, могут колебаться и из одного основного состояния переходить в другое, то есть от клеточной дифференцировки к клеточным делениям.

Не могли бы вы пояснить эту мысль?

Под этим лишь подразумевается, что клетки либо делятся, либо выполняют дифференцированные функции: например, клетки печени запасают гликоген, вырабатывают сахар крови и желчные пигменты, а нервные клетки через длинные отростки, дендриты, осуществляют связь с соседними нервными клетками.

Каждое состояние определяется генетической информацией, и поэтому переход от дифференцированной клетки к клетке делящейся можно представить себе следующим образом: в клетке, которая является, к примеру, частью регенерирующей печени, дифференцированные гены выключаются, а гены, необходимые для деления, «пускаются в ход».

Однако этот переход может быть обратимым, поскольку по завершении регенерации дальнейшие деления приостанав-

ливаются. Опухолевая же клетка начисто «забывает» о дифференцированных функциях и все свои силы отдает процессу деления.

Такую ситуацию Буллоу определяет как «деградацию дифференцировки до рака». Дифференцированные гены становятся «немыми», а гены, необходимые для митозов, переводятся в состояние «постоянной боевой готовности». Х. Буш назвал последние «опухолевыми генами».

Понятие «опухолевый ген» вполне очевидно?

Лишь при первом рассмотрении. Видимо, здесь нельзя говорить об альтернативе — дифференцировка или деление. Например, если синхронизировать культуру клеток, вырабатывающих коллаген, то продуцирование коллагена можно наблюдать на протяжении всего клеточного цикла; перерыва в синтезе не будет не только в S-фазе, но и во время митоза. Поэтому митоз и дифференцированная функция не всегда исключают друг друга.

Не свидетельствуют ли гепатомы с минимальными отклонениями также о том, что опухолевые свойства и дифференцированные функции в принципе не исключают друг друга?

Да. Описана целая серия гепатом, которые растут относительно быстро и все же в какой-то степени похожи на нормальную ткань печени. Медленно растущие гепатомы продолжают вырабатывать гликоген и даже желчные пигменты, а ведь обе эти функции — привилегия нормальных клеток печени. Итак, в данном случае опухолевый рост оказывается совместимым с выполнением дифференцированных функций. „По мере обнаружения экспериментальных опухолей «с минимальным отклонением» представление о том, что перед каждой клеткой стоит альтернатива — размножиться или дифференцироваться, — потеряло былую привлекательность (Е. Райд)».

И все же понятие «опухолевый ген» не следует считать ложным?

Нет. Блокирование «митотической информации» может быть нарушено, но при этом специфические функции не будут затронуты. Однако обычно специфические функции клетки сильно поражаются; как правило, в опухолевых

клетках может проходить меньше специфических процессов, чем в нормальных клетках.

По существу мы затрагиваем уже область делеционной гипотезы, которая «в своей простейшей форме утверждает, что в опухолевой клетке отсутствуют кое-какие ферменты, которые были в нормальной клетке-предшественнице» (Поттер).

Какие соображения положены в основу этой гипотезы?

Она была сформулирована Миллерами, которые обнаружили, что канцерогены связываются определенными белками в клетке (*h*-белки). В «завершенной» опухолевой клетке эти белки, которые в нормальной клетке реагировали бы с канцерогенами, отсутствуют.

*Но ведь в опухолевой клетке недостает не только *h*-белков?*

Совершенно верно. Обычно нет целого ряда ферментов, и это, естественно, вызывает вопрос: какие же «нехватки» являются стратегически важными? Иными словами, какие из них в действительности сказываются на проявлении неопластических свойств опухолевой клетки?

Некоторые изменения можно отнести за счет токсического действия, поскольку канцерогены, как мы уже неоднократно отмечали, весьма вредоносные вещества: будучи использованными в высоких дозах, они неминуемо приводят к гибели клетки.

Удается ли выделить «токсические» изменения, которые не имеют отношения к канцерогенезу?

Исследователи неоднократно пытались дифференцировать токсические и канцерогенные эффекты, сравнивая воздействия химически родственных веществ на метаболизм клетки. Однако такой подход целесообразен лишь в том случае, когда два сравниваемых вещества вызывают примерно один и тот же токсический эффект. Все, на что, помимо этого, способно вещество, оказавшееся канцерогенным, считается специфическим для канцерогенеза.

Но речь идет не только о токсичности или канцерогенности, а и о том, являются ли наблюдаемые в метаболизме опухолевой клетки изменения первичными или

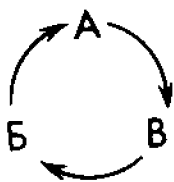
вторичными, причем ответ на последний вопрос достаточно сложен. Мы уже упоминали об изменениях в хромосомах, которые, по-видимому, лишь следствие более частых клеточных делений, а не их причина. Значит, изменение и других параметров может быть лишь следствием.

Делались ли попытки провести грань между первичными и вторичными изменениями в опытах с точным временным анализом в расчете на то, что стратегически важные события будут предшествовать менее важным вторичным изменениям?

Такие попытки делались, однако существует метод, более перспективный в отделении, образно говоря, пшеницы от соломы: сравнивают опухоли из одной и той же родительской ткани и пытаются выявить общие свойства. Опухоли, наиболее подходящие для этой цели, минимально отличаются от нормальной ткани, из которой они произошли (так называемые опухоли с минимальным отклонением). Вкратце суть метода сводится к следующему: очевидно, ни одна из функций, на которые еще способны клетки данной опухоли, не мешает их неопластическому росту. Если некоторые ферменты отсутствуют в определенных опухолях, но еще сохраняются в опухолях с минимальным отклонением, значит, их отсутствие никак не влияет на канцерогенез. Следовательно, наибольшая ценность этого метода заключается в том, что он развенчал мифы о влиянии делеций (нехваток) на канцерогенез (в особенности это относится к гипотезе гликолиза Варбурга).

Насколько доказательны заключения такого рода?

Вы стремитесь проявить осторожность в «развенчании мифов» и, видимо, не без оснований. Рассмотрим взаимоотношения между тремя партнерами в цикле регуляции роста нормальной клетки:



Нехватка (утрата) одного из них, будь то А, Б или В, должна нарушить эту регуляцию. Заключение о том, что оставшиеся два компонента не имеют никакого отношения к регуляции, очевидно, было бы ошибочным.

Нельзя ли на основании сравнительного рассмотрения опухолей с минимальным отклонением сделать конкретный вывод?

Думаю, что нет. Но если допустить, что одного-единственного решающего изменения в клетке достаточно, чтобы перевести ее на неверный путь, то подобные сравнительные исследования могут иметь определенный смысл. Известно, что структура клетки необычайно сложна, а жизнедеятельность зависит от того, как протекают в клетке тесно связанные между собой циклические процессы. Вместе с тем в клетке имеется и определенная иерархия: если в ней наличествует фактор, регулирующий рост, то он, безусловно, оказывает значительно большее влияние на возникновение опухолевых свойств, чем любые другие «периферийные» процессы клеточного метаболизма. При обсуждении концепции халонов мы уже отмечали этот немаловажный фактор.

Вернемся к вопросу о стратегических изменениях в связи с делеционной гипотезой. Канцерогены взаимодействуют с некоторыми белками, инактивируют их, а затем обеспечивают постоянное их элиминирование (удаление). Очевидно, эти белки, если они важны для канцерогенеза, должны быть какими-то особыми белками?

Именно так. Очевидно, это регуляторные белки; сегодня мы, вероятно, вправе назвать их халонами, пользуясь терминологией Буллоу. Однако это не решает проблемы, каким образом временная инактивация, например халона, ведет к его постоянной утрате? Мы не знаем также, как наследуется это приобретенное свойство.

Проблема наследования приобретенных свойств — не самая ясная страница в истории биологии. Теория Ламарка, разбитая Дарвином, не нашла соответствующей замены. А как разрешается эта проблема в экспериментальных исследованиях рака?

Пито и Хайдельбергер описали цикл двойной репрессии по типу схемы Жакоба—Моно, который сводится к окончательному прекращению синтеза поврежденного канцерогеном регулятора (репрессора). Необратимые изменения в собственно генетическом материале в данном случае не обязательны. Теоретически при добавлении интактного регулятора «порочный круг» должен разорваться, и клетка может вновь начать вырабатывать регулятор. В соответствии с этим канцерогенез в принципе должен быть обратим.

Если уж мы затронули ламаркизм, то не оставим и дарвинизм без внимания. Клетка, которая в процессе эволюции «изобрела» регуляторный цикл двойной репрессии, лишь навредила самой себе. При этом «вредоносное» действие канцерогена чудовищно усугубляется; вместо того чтобы приостановить действие регулятора на время, клетка делает это навсегда. Это все равно что выплеснуть ребенка вместе с водой.

О теории Пито—Хайдельбергера порой говорят, что она «слишком заумная», а кое-кто даже такое определение считает слишком мягким. И все же она позволяет устранить дефект в гипотезе белковой недостаточности, а именно: простая утрата даже регуляторного белка не может вести к превращению клетки в опухолевую. Эта утрата должна быть зафиксирована в генетическом материале клетки, а рассматриваемая теория объясняет, как это достигается.

Не являются ли превращения нормальной клетки в опухолевую обратимыми?

Печальный опыт медицины и экспериментальных исследований рака показывает, что путь к опухоли — это путь в один конец, во всяком случае, в подавляющем большинстве случаев. Именно этот печальный опыт породил, в частности, мутационную теорию рака, которой в современной науке отводится особое место.

Неужели ей ничего нельзя противопоставить? Разве опухолевая клетка не порождает только опухолевые клетки, разве свойства опухолевой клетки не наследуются? А если так, то каким образом это можно объяснить, отбросив изменения в генетическом материале?

В широком смысле слова любая опухолевая клетка действительно является клеткой мутировавшей, если под этим вы подразумеваете наследственное изменение. Но это вовсе не означает, что изменения в опухолевой клетке необратимы. Клетки почки в норме порождают лишь клетки почки, а клетки печени — лишь клетки печени, без каких-либо генетических различий в потомстве. Отличия же клеток почки от клеток печени вовсе не определяются мутацией, точно так же как не мутация определяет различия между клеткой печени и клеткой гепатомы.

Чем же определяется отличие клетки печени от клетки почки?

Лишь тем, что в клетке печени в активном состоянии находятся одни гены, а в клетке почки — другие. В клетке печени определенные участки ДНК, открытые в клетке почки, закрыты, и наоборот. Различия в свойствах клетки определяются не различиями в первичном генетическом материале, а тем, что в этих клетках разные участки ДНК находятся в репрессированном (подавленном) состоянии.

Следовательно, альтернативу мутационной теории вы усматриваете в том, что репрессии подвергаются разные участки ДНК. Не считаете ли вы, что «репрограммирование» может вести к превращению в опухолевую клетку?

Многие онкологи задумываются над подобными изменениями программы, в том числе и Сидни Вайнхауз, который изучал гликолитические ферменты в гепатомах с минимальным отклонением. По его мнению, в таких опухолях происходит изменение схемы считывания информации с генов. В результате ферменты, характерные для нормального профиля клетки печени, подавляются, в то время как ферменты, которые в норме в печени блокированы, наоборот, начинают синтезироваться.

Подобные «переключения» могут быть обратимыми. С этой точки зрения заслуживает интереса то обстоятельство, что, как полагают, случаи обратимых опухолей все же имеют место.

Вы имеете в виду опухоли у растения табака и сходные случаи?

Да, но следует также упомянуть и о давно известных бронхиальных карциномах. Как оказалось, многие бронхиальные карциномы вырабатывают АКТГ — гормон, который в норме клетками бронхов не производится. Вероятно, то, что в нормальных клетках «дремлет», в этих опухолях «пробуждается».

Было ли в принципе доказано, что высокодифференцированные клетки животных сохраняют весь генетический материал оплодотворенного яйца?

Разве вы не помните эксперименты Гёрдона? Ему удалось получить целых головастика и даже взрослых лягушек в результате имплантации ядер дифференцированных эпителиальных клеток кишечника в яйцеклетку (с убитым ядром). Тем самым было доказано, что эти клетки содержат всю информацию, необходимую для развития нормального взрослого организма.

Если опухолевая клетка действительно лишь «репрограммирована», не удастся ли получить нормальную лягушку путем имплантации в яйцеклетку ядра опухолевой клетки?

Р. К. Маккиннэлл с сотрудниками индуцировал опухоли почки у лягушки *Rana pipiens*, выделил ядра из опухоли и пересадил их в энуклеированные яйцеклетки. Как и в опытах с нормальными ядрами клеток кишечного эпителия, ему удалось получить жизнеспособных головастика. Следовательно, ядра опухолевых клеток сохраняют информацию для целой серии специализированных клеток. «При помощи реснитчатого эпителия головастики могли плавать в культуральной среде. Плавание же невозможно без функциональных рецепторов нервной ткани и поперечно-полосатой мускулатуры. Мышцы сердца проталкивали кровь через жабры. Таким образом, мультипотенция опухолевого генома была очевидной еще до гистологического анализа» (см. фиг. 49).

Не опровергает ли сказанное вами мысль о том, что опухолевая клетка должна быть обязательно мутировавшей клеткой?

Не совсем. Решающая мутация могла бы по существу проявиться лишь в клетках почки лягушки, однако

головастиков не удалось довести до этой стадии развития. Кроме того, следует помнить, что опухоль, из которой были взяты ядра, индуцировалась вирусом, и вполне возможно, что вирусный геном был просто-напросто утрачен при имплантации в яйцеклетку. Поэтому прежде, чем ответить на ваш вопрос, мы должны подождать и проверить, не будут ли химически индуцированные опухоли вести себя аналогичным образом. Несомненно одно: идея «репрограммированной» клетки начинает внушать все больше доверия.

Можно ли рассматривать цитоплазму яйцеклетки как «источник юности» для дифференцированных ядер?

Источник юности или нет, но цитоплазма играет роль в вынесении принимаемых клеткой решений. Ядерная мембрана препятствует осуществлению принципа «коллегальности в руководстве».

Нет никакой необходимости в трансплантации ядра дифференцированной клетки в яйцеклетку для ее «омоложения». Харрис проводил слияние эритроцитов цыплят (которые в норме уже не делятся) с клетками быстро растущей культуры ткани. В таких «гетерокарионах» наблюдались легко регистрируемые изменения ядра эритроцита: оно набухало и в нем начинался остановленный ранее синтез ДНК. Иными словами, ядро клетки реактивировалось.

Не наблюдалось ли также обратное явление, то есть подавление специфических функций клетки при слиянии клеток?

Такой случай был описан Эфрусси: он скрещивал клетки, вырабатывающие меланин, с клетками без меланина и получил гибриды, в которых синтез меланина не происходил. Это позволило Эфрусси сделать следующее предположение: в клетках без меланина синтез пигмента подавлен; этот же репрессор блокирует синтез пигмента и в гибридизированной клетке, содержащей ядра обоих типов.

Должно ли это означать, что при слиянии опухолевой клетки с нормальной неопластические свойства могут утрачиваться?

Совершенно верно. То, чего не хватает опухолевой клетке (делеция), может быть компенсировано нормальной клеткой при слиянии. По сообщению Харриса, гибриды опухолевых и нормальных клеток утрачивают способность расти как опухолевые клетки. Однако имеются и иные сообщения: гибриды опухолевых и нормальных клеток остаются опухолевыми клетками.

Не противоречит ли это делеционной гипотезе?

Лишь при первом рассмотрении, так сказать, с позиций регулятора роста, который при гибридизации должен быть внесен нормальной клеткой. Но если мы будем исходить из (гипотетического) существования рецептора для данного регулятора, то придем к другому выводу: если рецептор не будет реагировать на регулятор в опухолевой клетке, он не сделает этого и в клеточном гибриде.

Утрата регулятора или рецептора этого регулятора может рассматриваться как истинная мутация. Но, как вы полагаете, такая утрата может быть объяснена просто изменением характера распределения репрессированных участков на ДНК, то есть «репрограммированием»?

Я бы, пожалуй, сказал, что предпочтительнее предполагать изменение в характере распределения репрессированных участков, чем мутацию. Но это еще не означает, что решающие изменения вообще происходят в генетическом материале клетки. Изменения в ДНК вряд ли исчерпывают все вообразимые возможности: «соперником» мутированного ядерного гена, необходимого в классической теории мутаций, может оказаться плазматический ген, то есть генетический материал, находящийся вне ядра. Примером таких плазматических генов могут служить автономные митохондрии.

Предполагалась ли автономия клеточных мембран?

В данном случае термин «автономный» может означать не полную независимость от ядра, а лишь свободу выбора в сборке структурных компонентов мембран специфическим образом. Такие предположения действительно делались.

Играют ли «вторичные наследственные механизмы» сколько-нибудь значительную роль в современных онкологических исследованиях?

Я бы не сказал. Значение данного подхода заключается в том, что он предостерегает против опасности принимать все слишком очевидные теории за теоретическую необходимость и тем самым считать их якобы доказанными.

Мы уже довольно подробно обсудили, каким образом опухолевой клетке удается оставаться опухолевой клеткой. Нельзя ли теперь коснуться вопроса, с чего начинается превращение нормальной клетки в опухолевую?

Надеюсь, вы не собираетесь выудить из нас определение. Вирхов в свое время полагал, что «никто, даже под пыткой, не смог бы сказать, что же такое на самом деле раковая клетка». Но мы все-таки попытаемся дать предварительное определение: в простейшем смысле слова клетка считается опухолевой, если она делится чаще, чем соседние клетки.

Видимо, нам следует спросить, каким же образом подобные нежелательные деления клеток предотвращаются в нормальном случае?

Возможен лишь самый общий ответ на поставленный вопрос. За это несут ответственность регуляторные поля организма. Чисто формально регуляция может быть нарушена двумя способами: если произойдет ослабление регуляторного поля или утрата клеточных антенн, воспринимающих сигналы регуляторного поля.

Эти поля могут, в частности, иметь гормональную природу. Вспомните раки молочной железы у мышей и крыс, проявляющие зависимость от уровня гормонов в крови.

Можно ли рассматривать иммунную систему в качестве такого регуляторного поля?

Как полагают, система иммунной защиты хозяина в самом деле начинает действовать лишь в том случае, когда опухолевые клетки уже имеются. Таким образом, это как бы регуляция *post factum*. Правда, кое-кто считает, что иммунные механизмы принимают непосредственное участие в поддержании постоянства в ткани, например путем узнавания «сенильных» (старых) клеток и их уничтожения.

Ведет ли простое ослабление иммунного ответа к возникновению опухолевых клеток?

Теоретически да. Химические канцерогены могут просто блокировать выведение опасных опухолевых клеток благодаря своему иммунодепрессивному действию («непрямой химический канцерогенез в результате иммунодепрессии»).

Имеются ли тому экспериментальные подтверждения?

Мы можем сослаться на эксперименты Штутмана. Исследуя различные штаммы мышей, он обнаружил, что у штамма, который сильно реагировал на метилхолантрен, иммунная система была в широких масштабах парализована этим углеводородом. Напротив, у штамма, который почти не реагировал на метилхолантрен, иммунная способность практически не снижалась. Поэтому образование опухолей и иммунодепрессия, по-видимому, взаимосвязаны.

На других системах не удалось наблюдать столь явных различий: так, индуцирование аденом легкого метилхолантеном или уретаном ослаблялось у животных после удаления тимуса (ослабление иммунного ответа), хотя полностью и не снималось (Трайнин).

Значит, иммунные воздействия не играют роли в истинном индуцировании опухолевых клеток, но очень важны для размножения уже имеющихся опухолевых клеток?

Вот именно. Никто не сомневается, что для того, чтобы понять, как возникают опухолевые клетки, необходимо изучать иммунные воздействия. Эта точка зрения находит свое подтверждение в пассивной иммунизации животных-опухоленосителей аутогенными опухолевыми клетками, а также в многочисленных экспериментах с антилимфоцитарной сывороткой, проведенных не так давно. Вновь и вновь под действием этого агента, блокирующего иммунную систему, удавалось наблюдать сокращение латентных периодов. Это находится в полном согласии с предположением о том, что иммунные реакции в норме препятствуют развитию опухолей.

Попробуем пополнить наш список регуляторных полей, действующих на клетки. Не забыли ли мы самый важный из них?

Важнейшим регуляторным полем может быть сама ткань. В данный момент мы можем оставить открытым вопрос о том, что собой представляет это поле — импульсы, возникающие в результате контактов между клетками (не исключена даже их электрическая природа), или регуляторные вещества, вырабатываемые тканью (халоны).

Не следует ли нам теперь сказать несколько слов о том эффекте, под влиянием которого опухолевые клетки становятся «глухими» к сигналам регуляции роста? В соответствии с современным состоянием вопроса о первичности вы, очевидно, полагаете, что клетки «глухи» в первую очередь к регуляторным сигналам собственной ткани?

И здесь мы сталкиваемся с двумя противоречивыми случаями нарушения регуляции роста: клетки либо более не вырабатывают регуляторных сигналов (халонов), либо перестают их получать из-за утраты необходимых для этого антенн. Клетка без антенны, настроенной на прием регуляторных сигналов роста, автоматически должна стать опухолевой.

Согласитесь, что клетка, которая не способна далее вырабатывать сигналы регуляции роста, но все еще на них реагирует, — весьма любопытная опухолевая клетка.

Прежде всего мы не смогли бы даже распознать ее как опухолевую клетку до тех пор, пока ее соседи по тканевой организации вырабатывают регуляторные вещества в достаточных количествах. Такой клетке в большей или меньшей степени пришлось бы делиться в соответствии с ритмом нормальной ткани, и она была бы опухолевой, если можно так выразиться, инкогнито, вплоть до того момента, когда гнездо подобных клеток не разрослось бы и уровень жизненно важных регуляторных сигналов не упал бы ниже нормы. Лишь после того, как такое гнездо клеток достигнет «критической массы», может начаться беспрепятственный рост клеток — по крайней мере, во внутренних участках гнезда.

Не осложняется ли проблема определения опухолевой клетки в первую очередь тем фактом, что опухолевые клетки, как правило, в каждом случае имеют собственную историю развития?

Да, это действительно серьезно осложняет дело: опухолевой клетке никоим образом не может быть дано лишь статическое определение. Ее следует также рассматривать как процесс. А процесс этот начинается там, где прерываются регуляторные сигналы ткани. Мы можем говорить в данном случае о потере свойств, присущих нормальной клетке. Но такая опухолевая клетка существует лишь в хорошо организованной ткани, в которой питательные вещества и поддерживающая ткань (строма) имеются в наличии. Если опухолевая клетка действительно «пожелает» стать автономной, она должна принять на себя все заботы—производить строму и создать собственную сосудистую систему; без этого трансплантируемые опухоли невозможны.

Следовательно, на этой фазе опухолевая клетка, по-видимому, узнает нечто «новое».

Очевидно. Но история развития на этом не останавливается: инвазивный рост и метастазы проявляются на следующих этапах (прогрессии, по терминологии Фоулдса), и эти новые свойства также не имеют прямого отношения к потере механизмов регуляции роста. Все это всего лишь новые трюки, которые клетка усваивает по мере своего дальнейшего развития.

К сожалению, здесь мы должны остановиться. Не появляется ли возможность «выписать ордер на арест» опухолевой клетки? В нем могут быть перечислены следующие приметы:

- 1. Рост клеточных делений.*
- 2. Упрощение метаболического профиля (дедифференцировка).*
- 3. Асоциальное поведение.*

Конечно, попытку сделать можно. Однако подобный ордер на арест чреват весьма неприятными последствиями: не исключено, что по перечисленным в нем особым приме-

там многие нормальные клетки могут подвергнуться аресту, а многие опухолевые клетки ускользнут.

Во-первых, многие опухолевые клетки действительно делятся быстрее, чем окружающие их клетки ткани, но это отнюдь не всегда необходимое условие. Многие опухолевые клетки просто «забывают» отмирать, и тем самым масса ткани, образованной этими клетками, также начинает превышать норму. Некоторые терапевтические приемы нацелены на то, чтобы избирательно поразить клетки с высокой скоростью синтеза ДНК. Если же клетки не делятся быстрее, то эти попытки, мягко говоря, порождают новые проблемы: в подобных случаях терапевтические средства поражают не ту цель.

Во-вторых, если мы исключим из поиска дифференцированные клетки, то гепатомы с минимальным отклонением, равно как и многие другие дифференцированные опухоли, останутся незамеченными.

И наконец, в-третьих, «невинные» лимфоциты, которые поступают в ток крови из костного мозга, из-за своего асоциального поведения также могут быть приняты за опухолевые клетки.

Приведенные примеры вполне убеждают нас в том, что ни один из перечисленных критериев не является удовлетворительным.

Рассматриваемая ситуация заставляет нас вспомнить Чеширского Кота из «Алисы в Стране Чудес». Вы, верно, помните слова Алисы: «Я часто видела Кота без улыбки, но никогда не видела улыбку без Кота».

Всякий, кто пытается достичь «полной ясности» в определении существующей реальности, попадает в подобное затруднительное положение. Такое множество аспектов опухолевой клетки (усиление клеточных делений, дедифференцировка и т. д.) выпадает при более близком рассмотрении, что в конце концов лишь «улыбка» напоминает об истинном существовании раковых клеток, даже если мы и не в состоянии дать им точного определения.

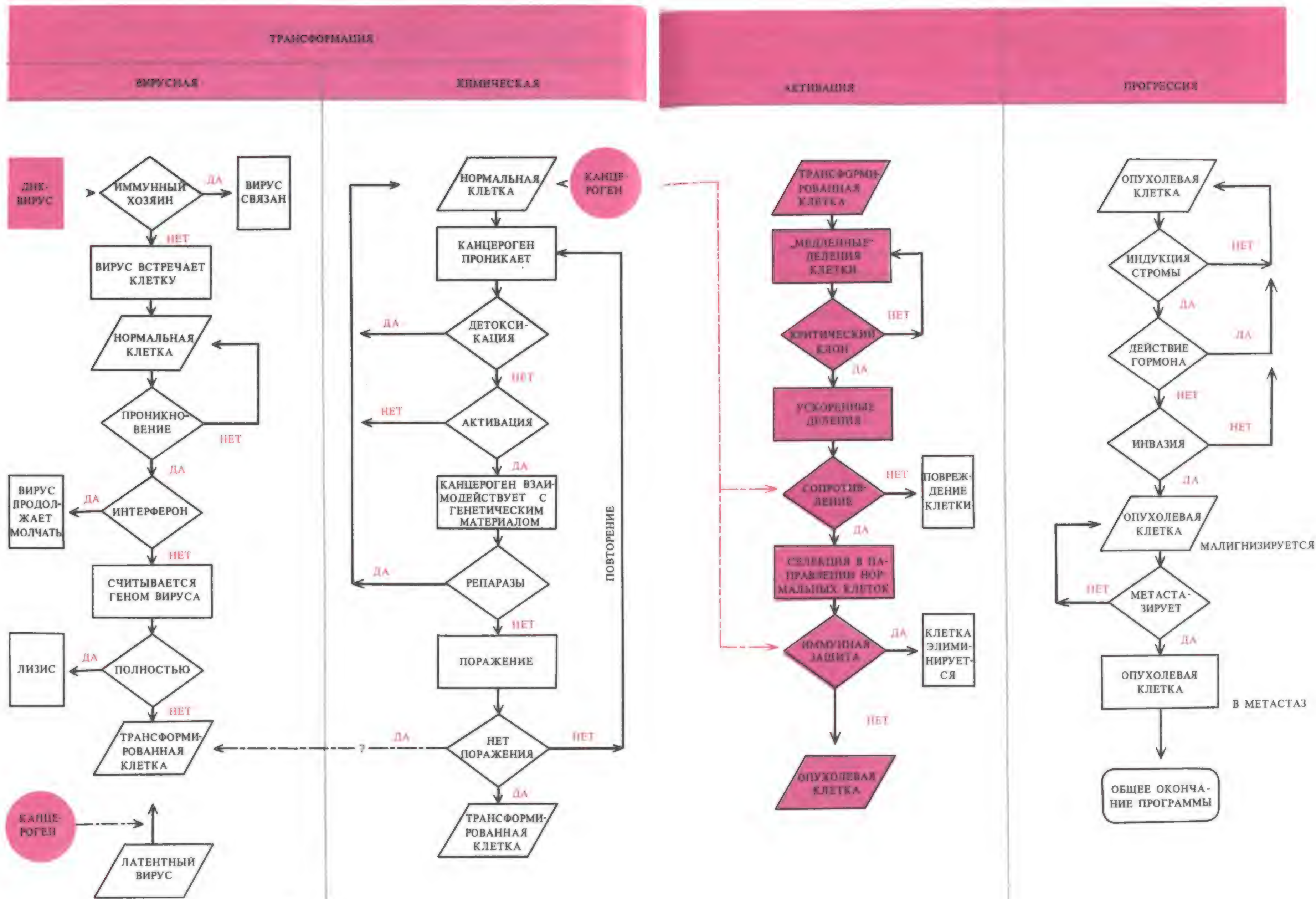
Не кажется ли вам, что это звучит — без имеющихся на то оснований — излишне пессимистически? Почему бы раковым клеткам не быть «плюралистическим сообществом», в котором каждая группа клеток выбирает себе нишу в различных регуляторных полях и развивается в значительной мере по собственному усмотрению?

Вот именно, и в этом смысле полиэтиологическая теория опухолей является не просто единственно достойным, но и адекватным описанием действительности.

Заключение: программа для компьютера

Нам все же следует подвести итог, даже если он и не слишком утешителен. Из множества теорий рака практически нельзя воспользоваться ни одной. До сих пор не получено удовлетворительного ответа на вопрос, что же такое опухолевая клетка? Лишь в одном есть уверенность: рак можно вызвать экспериментально самыми разнообразными способами. Однако по сей день неизвестно, существует ли общий знаменатель для всех причин, вызывающих рак.

За последние 20 лет накопилась почти необозримая гора фактов, и становится все труднее отделить важные факты от менее значительных. Возможно, компьютер сумеет помочь «отделить пшеницу от соломы», возможно, электронному мозгу со временем удастся создать единственно возможную и приемлемую теорию рака на основании бесчисленных отдельных наблюдений. Может быть, сегодня об этом говорить еще слишком рано, однако, по-видимому, следует попытаться сформулировать данную проблему для компьютера. Конечно, можно было бы переложить ее на плечи математиков, но попробуем и мы в заключение проследить за судьбой опухолевой клетки в такой схеме, составленной по принципу программы для компьютера (фиг. 51).



Фиг. 51.

Морфологический толковый словарь

Все клетки, главные строительные блоки растений и животных, сконструированы в соответствии с одной и той же основной схемой (см. фиг. 21). По определению Вирхова, "*omnis cellula e cellula*" — клетка может возникать лишь из материнской клетки.

Ткани — это скопление многих специализированных клеток. Их часто подразделяют на два широких класса: соединительно-опорная ткань и эпителиальная ткань. Такое подразделение уместно не только на основании их функций, но и на основании истории их развития: соединительно-опорная ткань возникает из среднего зародышевого листка (*мезодермы*), в то время как внутренний и внешний зародышевые листки (*эндо-и эктодерма*) дают начало всем эпителиальным органам и нервной системе. Как правило, клетки со специфическим предназначением, такие, как нервные, по своим функциям в дальнейшем отличаются от окружающих клеток, объединяют их, регулируют их питание и т. д.

Эпителий выстилает или покрывает все внутренние и внешние поверхности тела (эпидермис, слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта, дыхательные пути и т. д.). Тем самым он служит как бы «защитной оболочкой», отделяющей организм от окружающей среды и обеспечивающей синтез защитных структур (чешуйки, волосы, слизь). Кроме того, эпителий обладает способностью компенсировать утрату клеток благодаря деятельности «слоев базальных клеток» (о роли базальных клеток в гиперплазии см. на стр. 321). Различают плоский и цилиндрический эпителий, а также другие вариации в соответствии с формой клеток и их взаимным расположением. Паренхиматозные органы, такие, как печень, слюнные или молочные железы, также состоят из эпителиальных клеток. Это стабильные ткани (см. репаративная регенерация, стр. 320).

Так называемая **соединительно-опорная ткань**, составляющая около 70—80% всей массы организма высших животных, включает в себя кости, хрящ, жировую ткань, мышцы, сухожилия и т. д. Они придают организму форму. Соединительная ткань помогает эпителиальной ткани сохранять нужную форму даже в мельчайших ее участках и таким образом способствует формированию паренхиматозных органов.

Гистология. Ткань можно наблюдать под микроскопом лишь после специальной ее подготовки. Современные исследователи сначала фиксируют ткань в формалине или в спирте (то есть делают ее стабильной с достаточной сохранностью структур), а затем заливают в парафин. Бритвенным лезвиям, которыми пользовались на заре гистологии, пришли на смену микротомы, позволяющие делать удивительно тонкие срезы с парафиновых блоков. После помещения срезов на стеклянную пластинку их окрашивают различными красителями (гематоксилин и эозин); срезы изучают под микроскопом при различных увеличениях. Интересно, что ядра, богатые ДНК, окрашиваются интенсивнее щелочными красителями (базофилия), тогда как цитоплазма связывает преимущественно кислые красители.

Гистологический диагноз опухоли ставится прежде всего на основании общей картины ткани. При этом учитываются не только клетки ткани сами по себе, но и их взаимное расположение и тканевая организация. Особое внимание уделяется границе между опухолевой и нормальной тканью. Таким образом, на первом плане стоят «архитектурные изменения», между тем как «облик» отдельной клетки не дает никакого повода идентифицировать ее как опухолевую.

Однако даже с учетом сказанного многие опухолевые клетки обнаруживают характерные изменения. На этом принципе основана **эксфолиативная цитология** — раздел цитологии, изучающий слущивающиеся клетки женских половых органов («мазки по Папаниколау»), клетки дыхательных путей и т. п. В широком клеточном спектре можно выделить многочисленные «подозрительные» признаки, по которым можно обнаружить рак.

Клетки **злокачественных опухолей** в отличие от клеточного спектра нормальной ткани представляют собой в высшей степени гетерогенную популяцию. Маленькие и большие клетки располагаются рядом, иногда у них большие ядра, иногда небольшие, одни окрашиваются сильно,

другие слабо (полиморфизм, атипическая популяция). Соотношение между массой цитоплазмы и ядра сдвигается в пользу последнего. Благодаря высокому уровню РНК цитоплазма окрашивается основными красителями интенсивнее, чем нормальные клетки. Очевидным признаком постоянного роста является наличие многочисленных митозов, которые, как правило, протекают с отклонениями от нормы (нерасхождение и разрывы хромосом и т. д.). При рассмотрении таких митотических картин часто создается впечатление, что деления клетки на две недостаточно, ибо среди обычных митозов наблюдаются трех- и четырех-полюсные. Забота о точном распределении генетического материала больше не проявляется, и число хромосом в отдельных клетках иногда заметно колеблется (полиплоидия).

Нормальная, или **физиологическая**, регуляция роста тканей свидетельствует о том, что формирование новых клеток не является привилегией опухолей. Напротив, чешуйки эпидермиса ежедневно замещаются за счет подлежащих клеточных слоев; новые клетки крови постоянно выходят в кровоток для замены отживших свой срок клеток. В тканях, которые непрерывно обновляются, содержится особый тип клеток, способных к воспроизводству,— так называемые зародышевые клетки. В коже это базальные клетки, а в костном мозгу за воспроизводство определенной части форменных элементов крови отвечают стволовые клетки. Они поставляют специализированные (дифференцированные) функциональные клетки с такой же скоростью, с какой происходит элиминирование старых. Такие самообновляющиеся ткани способны легко восстанавливать повреждения.

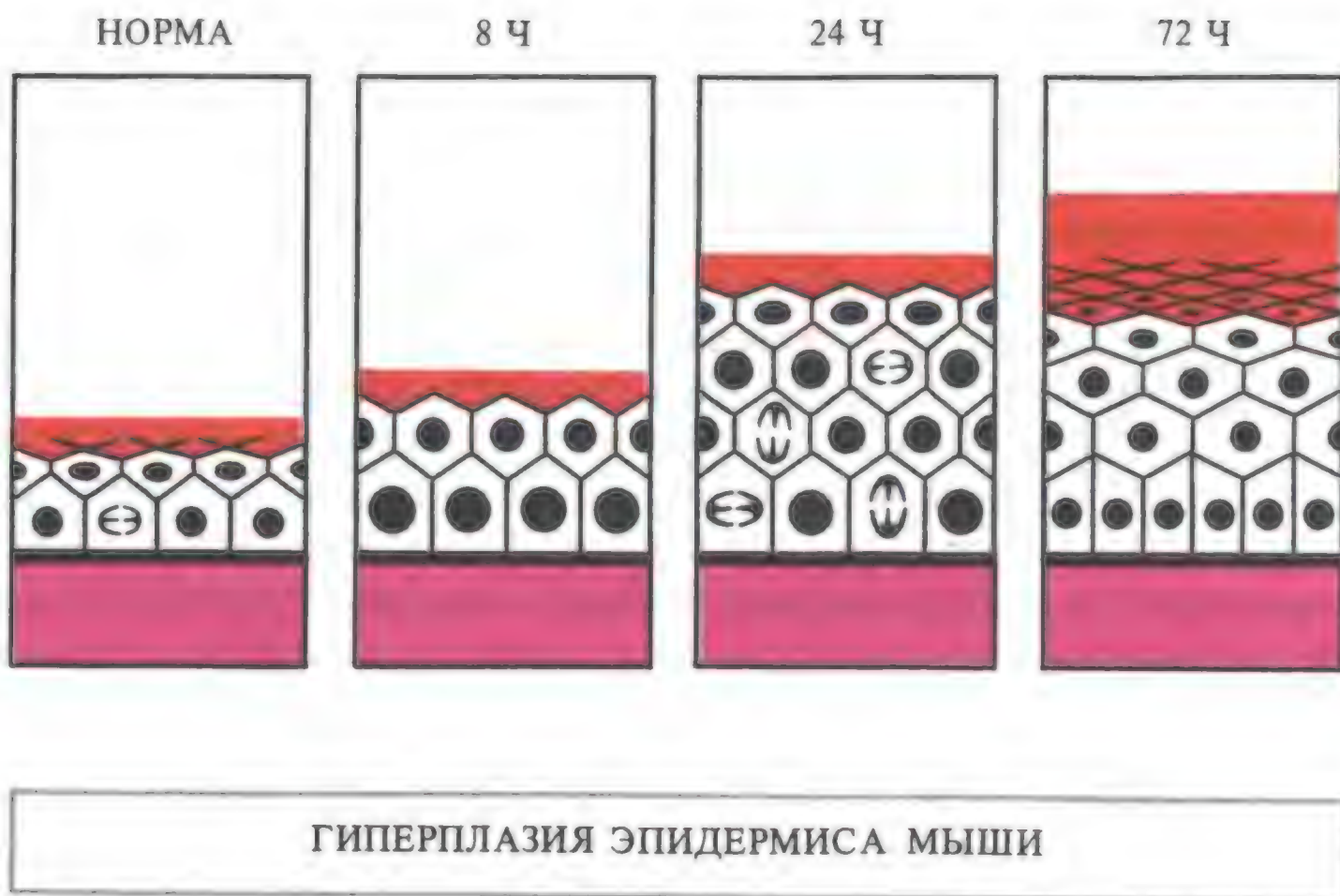
Репаративная регенерация — процесс более сложный, происходящий в так называемых стабильных тканях (паренхиматозные органы), в которых нет слоев зародышевых клеток. В той мере, в какой они на это способны, им приходится покрывать потери за счет собственного набора уже специализированных клеток. Часть клеток оказывается вынужденной «сменить полюса» — от функционального состояния к митозу. Это позволяет восстанавливать первоначальную клеточную массу и таким образом делает правдоподобным миф о Прометее.

Метамплазия ткани. Если клетки плоского эпителия (например, в коже) внезапно начинают расти из зародышевого

слоя цилиндрического эпителия или если простые клетки соединительной ткани начинают вырабатывать кость в неподходящем месте, это означает, что происходит так называемая метаплазия. Иными словами, клетки соединительной ткани еще не «забыли», как создавать кость, а «зародышевые клетки» цилиндрического эпителия все еще «знают», как вырабатывать клетки плоского эпителия. Однако они не в силах убежать от собственной тени: в процессе метаплазии эпителиальные клетки никогда не станут клетками соединительной ткани, и наоборот. Эпителиальная метаплазия обычно имеет своим началом хроническое повреждение (воспаление, механическое раздражение и т. д.), и, следовательно, ее позволительно рассматривать как результат неверно направленной регенерации. Путь развития многих злокачественных опухолей (например, рак бронхов) возможно понять лишь с учетом рассмотрения перехода через эпителиальную метаплазию: сквамозная (плоскоклеточная) эпителиальная карцинома¹ не всегда возникает из сквамозного эпителия.

Если же процесс регенерации, например в эпителии, идет в верном направлении, но превышает норму, то происходит *гиперплазия*. В этом случае формирование новых клеток превышает исходное число клеток в данном органе. Рассмотрим это на примере эпидермиса мыши (фиг. 52). В норме базальные клетки (слой зародышевых клеток) покоятся на базальной мембране. Из них возникают специализированные (дифференцированные) клетки, которые в свою очередь превращаются в роговой слой. (Для упрощения мы не рассматриваем здесь периферические структуры кожи, такие, как волосяные фолликулы, потовые железы и т. д.) В случае повреждения «интерфолликулярного» эпидермиса подходящим химическим «стимулятором» происходит гиперплазия. Сначала эпидермальные клетки набухают (8 ч), после чего из клеток базального слоя внезапно образуется множество новых клеток (24 ч). В течение короткого времени можно наблюдать деление клеток не только в базальном слое, но и в верхних слоях. Затем следует экстенсивное образование рогового слоя (72 ч), который позднее слущивается. На этой стадии потеря клеток начинает превышать скорость их формирования, а через 10—12 дней

¹В отечественной медицинской литературе принят термин «плоскоклеточный рак». — *Прим. перев.*



Ф и г. 52.

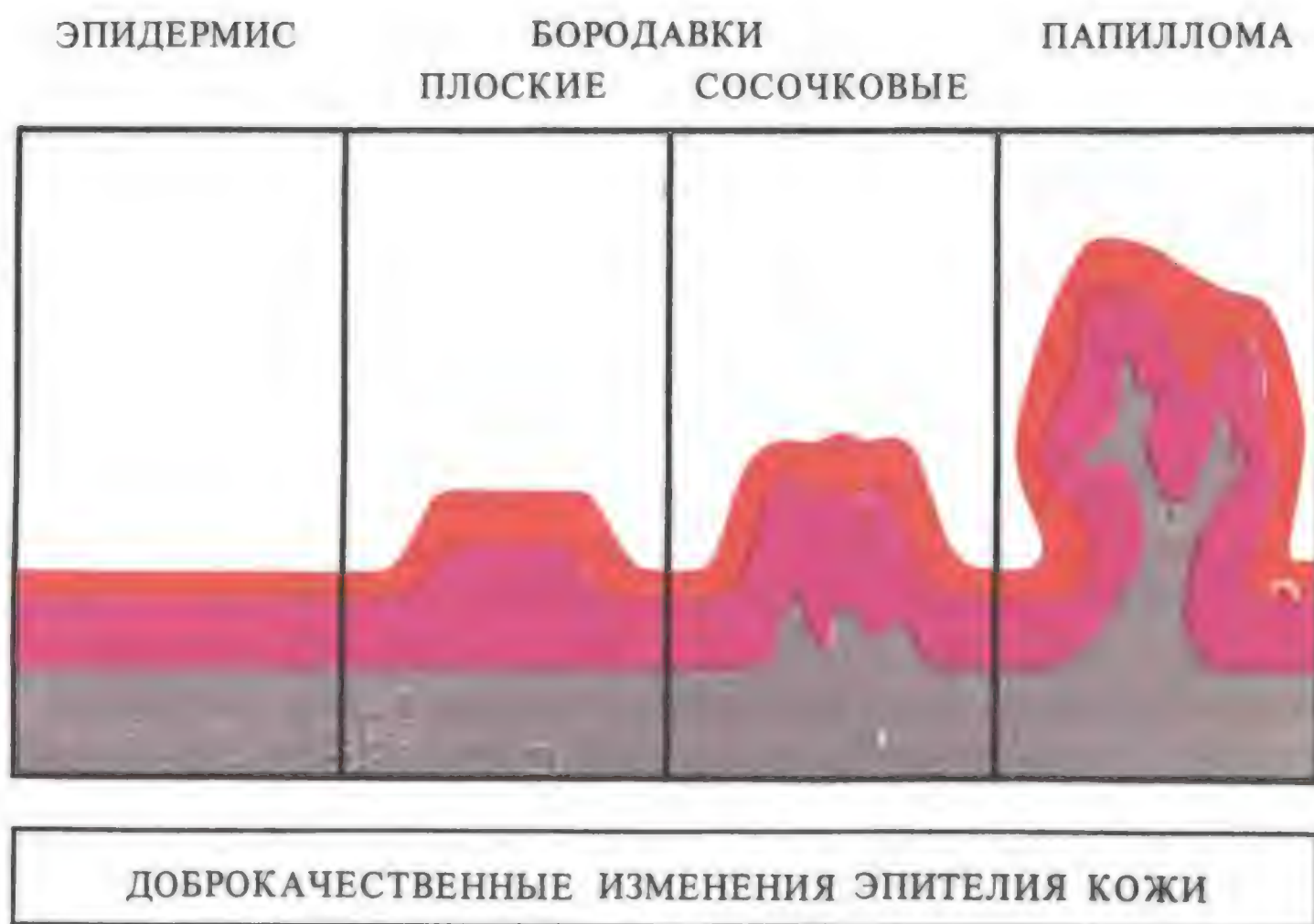
число клеток в коже снижается до исходного уровня, и механизмы регуляции роста вновь возвращаются к норме. Этот пример ясно показывает, что интенсивное воспроизводство клеток не всегда является признаком опухоли.

Длительное избыточное гормональное стимулирование также может вести к гиперплазии. Возросшая секреция адренокортикотропного гормона гипофизом способствует не только усиленному производству гормонов коры надпочечника, но и вызывает рост числа клеток этого органа из-за более интенсивной выработки гормонов (гиперплазия коры надпочечника). Подобное воспроизводство ткани следует рассматривать как «соответствующий ответ на изменения в гормональном соотношении». Число нормальных клеток увеличивается, поскольку их «желаемое число» устанавливается на новом, более высоком уровне. Если эпителиальная ткань — как покровная, так и ткань, входящая в паренхиматозные органы, — превышает критическую массу, то образуются соответственно *папилломы* или *аденомы*.

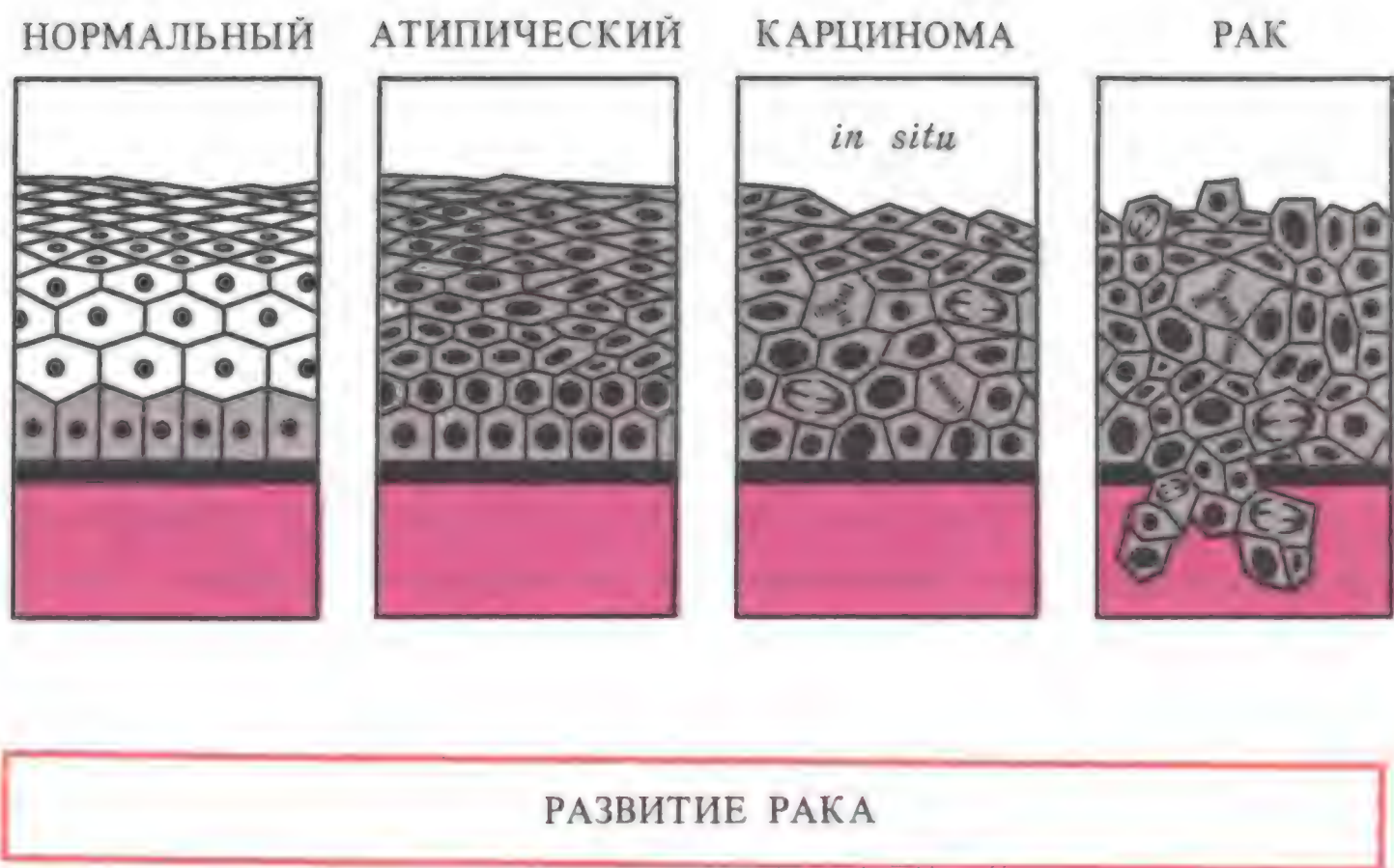
Эпителиальные клетки более не имеют места на поддерживающей их соединительной ткани, и для удовлетворения потребностей этих клеток в питании вместе с ними вынуждена размножаться и сосудисто-соединительная ткань. Плоские эпидермальные бородавки (фиг. 53) все еще

можно рассматривать как гиперплазию эпидермиса. В случае же сосочковых бородавок соединительнотканная поддержка оказывается недостаточной; она растет вместе с эпителием наружу и в конечном итоге может составлять бóльшую часть бородавки. Папилломы становятся уже относительно независимыми периферическими структурами кожи с определенной автономией. Однако они способны и регрессировать. Если их удалить, они не всегда появляются вновь. Поэтому, если о них и говорят как об опухолях, то как об опухолях доброкачественных. Соответствующие разрастания эпителиальных клеток в железах называются аденомами. Поскольку аденомы находятся в самой ткани, они проявляют себя просто в виде тканевых узелков. Аденомы также относятся к доброкачественным опухолям. Границу, отделяющую эти разрастания от злокачественных, по-видимому, яснее всего можно увидеть при анализе «старта карциномы».

Для описания «старта карциномы» (*карцинома in situ*) удобно рассмотреть начало развития рака шейки матки. На внешней части шейки матки из, по всей видимости, нормального эпителия может развиваться атипичный эпителий, а вслед за этим и карцинома *in situ* и в конце концов рак (фиг. 54). Первоначальные изменения заключаются в том,



Ф и г. 53.



Ф и г. 54.

что «яркие» клетки («нормальные» на рисунке) замещаются гораздо более базофильными клетками, то есть темноокрашенными («атипические» на рисунке). Ядра, главным образом базально расположенных клеток, утрачивают свои обычные размеры и становятся полиморфными; послойная организация клеток все менее заметна и в конце концов полностью исчезает («карцинома *in situ*» на рисунке). Аномально расположенные клетки эпителия характеризуются усиленным клеточным делением, а также интенсивной окраской ядер и цитоплазмы; к этому можно добавить неясно очерченные клеточные границы, выраженный ядерный полиморфизм, сдвиг ядерно-цитоплазматического соотношения в пользу ядра и многочисленные, часто атипические митозы. В целом это картина злокачественной опухоли. Однако «клеточная армия» с оружием наготове все еще стоит по свою сторону границы с мирным соседом, отсюда и название «*in situ*», что по-латыни означает «на месте». Лишь когда пересекается демаркационная линия, то есть базальная мембрана, и клетки начинают расти инвазивно («рак» на рисунке), мы можем говорить о раке, поскольку с данного момента атипические клетки проявляют свой злокачественный, агрессивный характер и только с данного момента они способны метастазировать.

«Карциному *in situ* можно в какой-то степени сравнить с «темной лошадкой» на скачках.

Теперь мы можем точнее определить концепции «доброкачественности» и «злокачественности». Различия между доброкачественными и злокачественными опухолями представлены в табл. 7, которая может оказаться полезной для диагностики опухолей, хотя в ней мало что сказано о прогнозировании. Гистологически злокачественная папиллома трахеи в результате быстрого роста может стать непреодолимым препятствием при дыхании и убить хозяина. «Доброкачественная» опухоль мозга сама по себе смертельно опасна. И наоборот, «злокачественный» рак кожи сравнительно легко излечивается и поэтому не считается опасным (см. табл. 7).

Таблица 7

Характеристика новообразований	
Доброкачественные	Злокачественные
преимущественно медленный рост	обычно быстрый рост
Растет только экспансивно	Растет часто с деструкцией и инфильтрацией
Четко ограниченные (без инвазии, деструкций или метастазов)	Плохо ограниченные, прорастание в кровеносные сосуды, метастазы
Структура исходной ткани в значительной мере сохраняется (зрелая, дифференцированная ткань)	Возможны серьезные отклонения от структуры исходной ткани вплоть до полной неузнаваемости (атипизм и полиморфизм в ткани, клетках и клеточном ядре)
Митозов мало	Преимущественно с большим числом митозов

Карцинома, саркома. В соответствии с двумя классами тканей различаются две группы опухолей. Из эпителиальных тканей развиваются раки, а соединительно-опорная ткань дает саркомы. Хотя соединительно-опорная ткань у человека по своей массе превышает эпителиальную почти в пять раз, раки встречаются в 11 раз чаще, чем

Номенклатура опухолевого роста

Исходная ткань	Доброкачественные опухоли	Злокачественные опухоли
<i>Эпителиальная ткань</i> кожа железы печень	Папиллома Аденома Аденома из клеток печени	Рак кожи Аденокарцинома Гепатокарцинома (гепатома)
<i>Пигментные клетки</i>	Невус	Меланома
<i>Нервные клетки</i>	Ганглионеврома	Нейробластома (только у молодых людей)
<i>Соединительно-опорная ткань</i> соединительная ткань хрящ кость мышцы	Фиброма Хондрома Остеома Миома	Фибросаркома Хондросаркома Остеогенная саркома Миосаркома

саркомы. Иными словами, если учесть разницу в массе, раки развиваются в 50 раз чаще, чем саркомы. Частота возникновения раков возрастает с возрастом, в то время как частота возникновения сарком от возраста практически не зависит. Этот факт обычно объясняется тем, что покровный эпителий внешних и внутренних поверхностей первым принимает на себя удар разнообразных канцерогенных стимуляторов.

В табл. 8 мы постарались дать небольшой перечень различных опухолей и несколько примеров номенклатуры опухолей. Из каждой ткани может возникать не одна, а целый спектр доброкачественных и злокачественных опухолей. В принципе лишь ткани, клетки которых способны к делению, дают опухоли. Поскольку нервные клетки, например, в зрелом состоянии не делятся, но делятся у детей, злокачественные опухоли из нервных клеток обнаруживаются лишь у молодых людей (нейробластома). Несколько доброкачественных опухолей из приведенных в табл. 8 нам уже известны.

Лейкозы. Если ткани, в которых формируются белые клетки крови, подвергаются неопластическим изменениям, то они начинают вырабатывать лейкоциты в очень больших количествах — опухолевые лейкоциты, подавляющая часть которых попадает в ток крови. Из-за избытка лейкоцитов кровь становится беловатой; это обстоятельство позволило Вирхову назвать заболевание белокровием. Основные элементы нормальных белых клеток крови вырабатываются в двух источниках: гранулоциты — в костном мозге, лимфоциты — в лимфатической ткани. Соответственно различают миелоидные и лимфатические лейкозы. При острых миелоидных лейкозах в кровоток выбрасываются даже незрелые предшественники гранулоцитов (табл. 9).

Таблица 9

Классификация лейкозов

Тип клетки	Происхождение	Лейкозы	Сóлидные опухолевые формы
Гранулоциты	Костный мозг	Острый и хронический миелоидный	Миелосаркома
Лимфоциты	Лимфатическая ткань	Хронический лимфатический	Различные лимфомы, лимфосаркомы

Если выхода клеток в кровоток не наблюдается, то говорят об алейкемическом лейкозе. Отличительной его характеристикой являются опухолевые разрастания, поскольку клетки скапливаются в том месте, где производятся. Разумеется, табл. 9 весьма упрощенная и дает лишь самое общее представление о лейкозах. Опухолевая природа лимфатических лейкозов обычно проявляется в видимом глазом увеличении лимфатических узлов. При миелоидных формах нормальный костный мозг, где формируются элементы крови, замещается «опухолевым костным мозгом», в результате чего возникает недостаток красных клеток крови (анемия) и нормальных гранулоцитов. Это может проявиться в высокой восприимчивости к инфекционным заболеваниям. Из-за функциональной неполноценности лейкозные клетки бессильны против бактериальных инвазий.

Асцитные опухоли. Другая «жидкая» форма опухоли известна главным образом из экспериментальных исследо-

ваний рака. Иногда асцитные опухоли удается вызывать путем инъецирования опухолевого материала в брюшную полость подопытного животного. Опухолевые клетки индуцируют образование асцитической жидкости, в которой они находятся во взвешенном состоянии; там же они питаются и размножаются подобно истинным одноклеточным организмам. Им не требуются поддерживающая соединительная ткань и кровеносные сосуды. Животное-реципиент практически превращается в живую питательную среду для этих клеток. Многие линии таких опухолей ведутся уже на протяжении нескольких десятилетий через сотни пассажей, что доказывает «бессмертие» такого рода опухолевых клеток. Подобно клеткам тканевых культур, они, очевидно, не созревают до нормальных (*перевиваемые* опухоли, см. стр. 161)¹.

Рост злокачественных опухолей (в со́лидных² новообразованиях) характеризуется в первую очередь инвазивным ростом и разрушением соседних тканей, а также расселением клеток опухоли в процессе метастазирования. Ответственным за инвазивный рост считают целый ряд факторов; они рассмотрены подробно на стр. 117 и след. К таким факторам относятся повышение отрицательного заряда на поверхности опухолевых клеток, их возросшая, почти амебоподобная подвижность и ослабление адгезивных свойств. Изменения в мембранах, ведущие к утрате способностей отвечать на контактное торможение, а также возросшее давление внутри опухоли тоже способствуют инвазивному росту.

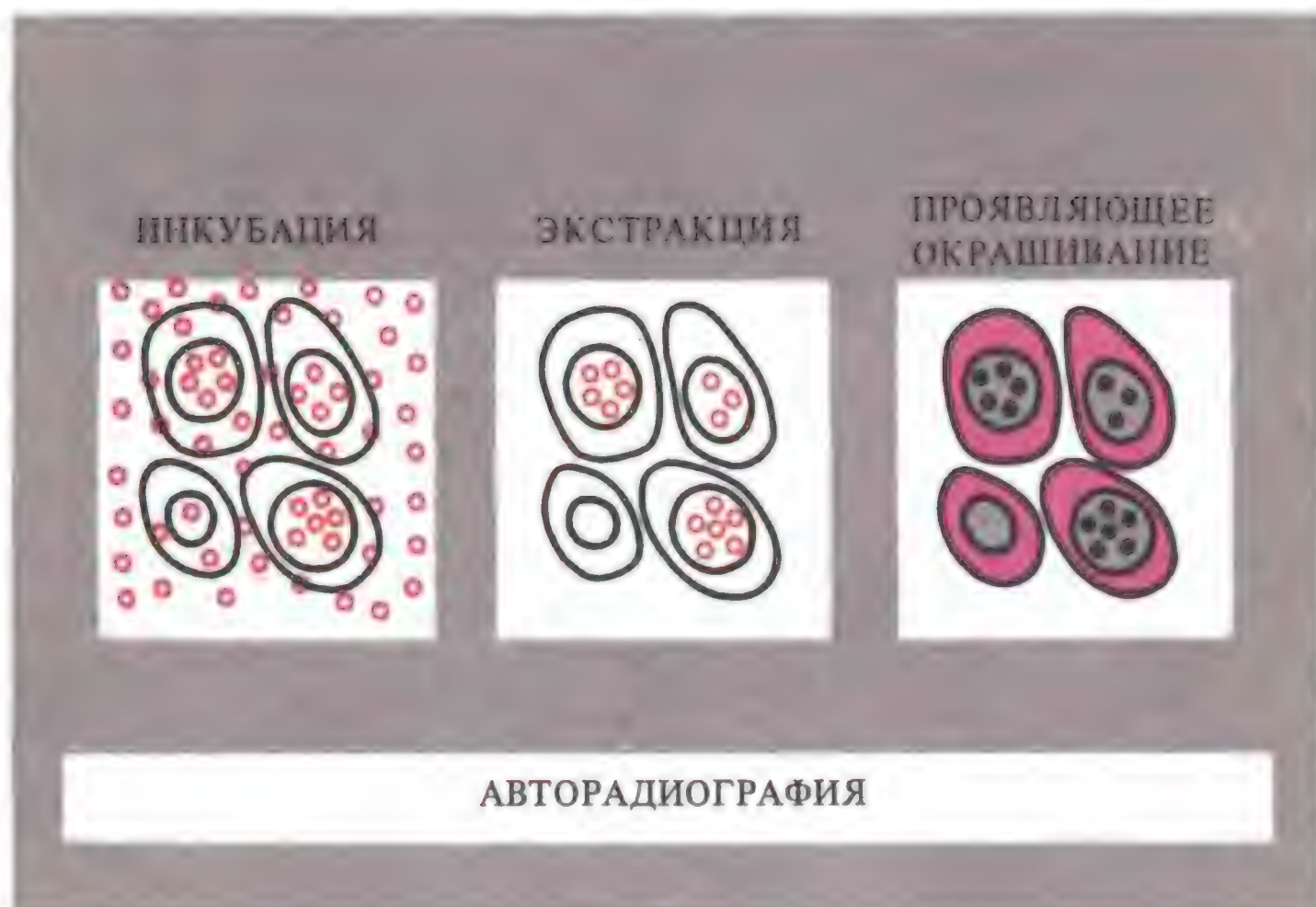
Литические ферменты опухолевой ткани также ответственны за **разрушение** нормальных тканей. Если **первичная опухоль**, то есть неопластическое разрастание в месте его возникновения, остается прикрепленной к родительской ткани и к окружающим клеткам и если дело ограничивается только инвазивным ростом и разрушением окружающей ткани, то все еще есть надежда после удаления этой опухоли рассчитывать на выздоровление. Злокачественная опухоль становится крайне опасной лишь в результате **метастазирования**, то есть расселения опухолевых клеток по отдаленным органам через ток крови и лимфы, иными словами, в

¹В клинике широко известны также первично-асцитные формы рака яичников, где наблюдаются подобные закономерности. — *Прим. ред.*

²Со́лидными новообразованиями называют опухоли, богатые собственно опухолевыми элементами и бедные опорной тканью. — *Прим. перев.*

результате генерализации заболевания. Мигрирующие опухолевые клетки могут прилипнуть к стенкам капилляров, размножиться и вырастать в новую опухоль, так называемый метастаз, или **вторичную опухоль** со всеми свойствами первичной опухоли. Такая связь подчас столь очевидна, что первичную опухоль нередко идентифицируют по ее метастазам. Метастазы в легких, состоящие из клеток гепатомы, доказывают существование клеток рака в печени, даже если этот рак находится в латентном состоянии. Подробнее процесс метастазирования рассматривался на стр. 99 и след.

Авторадиография. Гистологов часто упрекают в том, что они имеют дело лишь с фиксированным, то есть мертвым, материалом и изучают структуры, которых нет в живых клетках, то есть артефакты. Авторадиография частично облегчает положение. В этой связи Макс Бекманн приводит слова одного каббалиста: «Если вы хотите постичь невидимое, вам следует как можно глубже проникнуть в видимое». Для микроскописта «невидимое» должно означать выводы о протекающих в живых клетках процессах и причинных связях на основании гистологического анализа. И здесь авторадиография играет решающую роль: она позволяет сделать протекающие события «не-

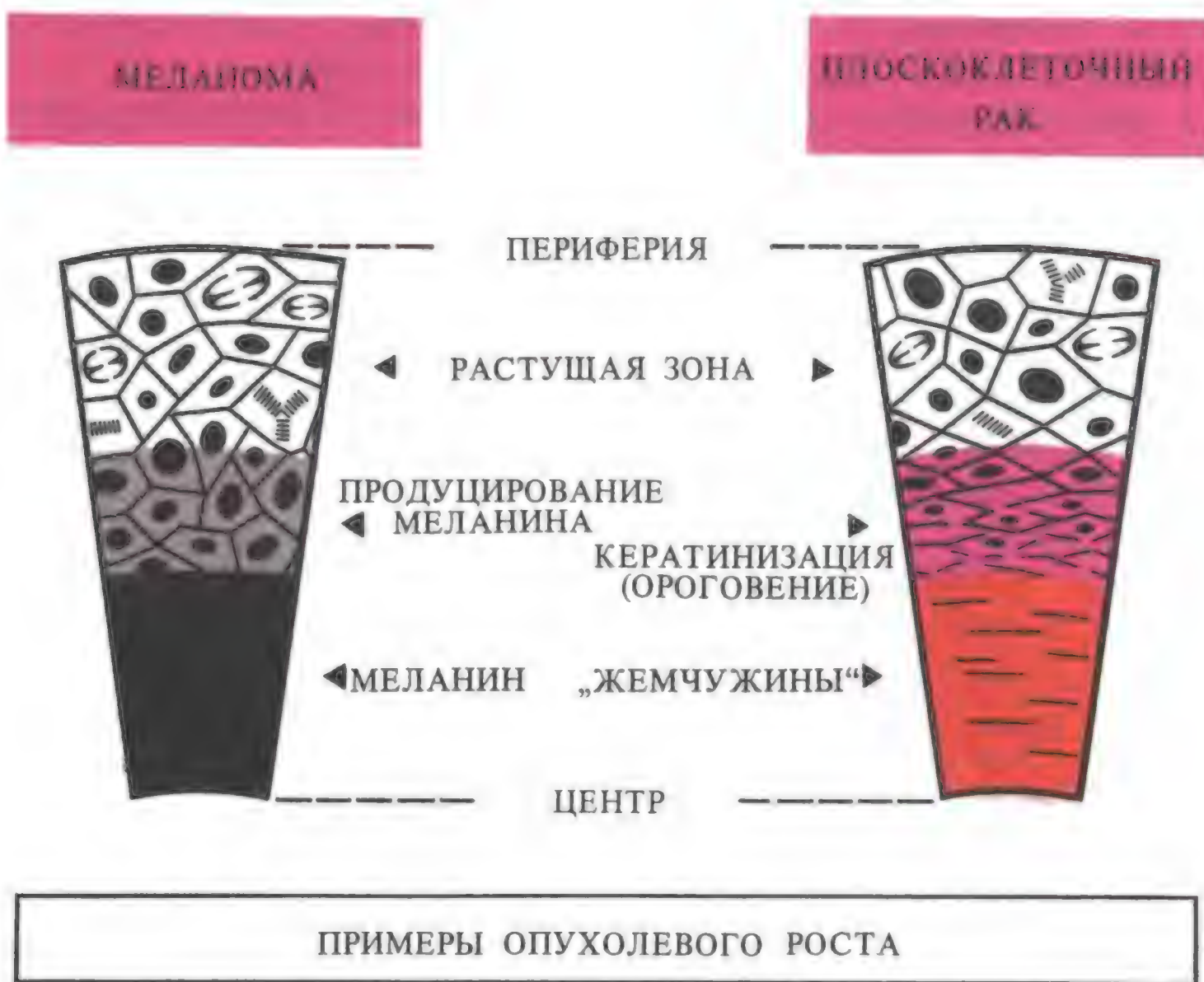


Ф и г. 55.

посредственно» видимыми («динамическая микроскопия»). В авторадиографии используется способность радиоактивного материала вызывать почернение фотоэмульсии. Если клетку инкубировать с меченым тритием предшественником нуклеиновых кислот или белка, то он будет внедряться в соответствующие структуры клетки (фиг. 55). Покрыв после фиксации препарат слоем чувствительной фотоэмульсии или пленкой, мы сможем наблюдать под микроскопом (после экспозиции и проявления) небольшие черные точки на пленке как раз над теми местами, где в клетке произошло внедрение меченого элемента. Разумеется, при этом меченый конечный продукт в клетке не должен теряться в процессе гистологической обработки, а оставшиеся не использованными клеткой радиоактивные предшественники должны быть отмыты. Подобный «криминалистический» подход позволяет проследить за продвижением отдельных меченых молекул в клетку, поскольку эти молекулы сами обнаруживают себя.

Рассмотрим пример: если проинкубировать культуру идентичных клеток со специфическим меченым предшественником ДНК в течение непродолжительного времени, то определенный процент клеток на авторадиографическом препарате вызовет почернение пленки над ядрами; это будут ядра тех клеток, в которых в момент эксперимента происходил новый синтез ДНК (см. фиг. 51). Метод авторадиографии позволяет видеть, что «делают» клетки.

Строма опухоли. Сólидные опухоли состоят не только из опухолевых клеток, но и из соединительной ткани, которая дает им структурную поддержку, а также, разумеется, из кровеносных сосудов для удовлетворения метаболических потребностей клеток. Соединительная ткань и сосудистая система, собирательно называемые стромой, образуются из соответствующих окружающих опухоль тканей. К подобной форме «обслуживания» нормальную ткань принуждает опухоль. Такого рода взаимоотношения между опухолевой и нормальной тканью можно продемонстрировать на примере остеобластических метастазов, где раковые клетки принуждают окружающие их кости вырабатывать костный скелет. Во многих раках строма развивается настолько, что компоненты соединительной ткани преобладают над опухолевыми клетками. Этим и определяется наименование такой группы опухолей — «скиррозные» (твердые). В своем разрушительном



Ф и г. 56.

действии опухоли часто не останавливаются даже перед разрушением собственной стромы и, таким образом, обрывают необходимые для жизнедеятельности коммуникации в собственной структуре, что быстро ведет к обширным некрозам в ранее достаточно васкуляризованных зонах.

Строение опухоли. В неопластических узлах, особенно в трансплантированных опухолях, наибольшей пролиферативной активностью обычно обладают клетки на периферии опухоли. Частота митозов снижается по направлению к центру, где находятся самые старые, самые зрелые клетки. Ороговевающий плоскоклеточный рак ясно позволяет видеть географию подобной организации (фиг. 56). В центре мельчайших узелков роста мы наблюдаем так называемые раковые «жемчужины», образующиеся из зрелых клеток. Сходная картина отмечается в злокачественных меланомах (см. фиг. 56). Со снижением частоты митозов по направлению к центру клетки, которые, казалось бы, забыли о своих дифференцированных функциях, вдруг начинают вырабатывать продукт дифференцировки — меланин, теряют

свою способность делиться и образуют окрашенные в глубокий черный цвет некротические участки.

Два понятия — *дифференцированный* и *дедифференцированный* — описывают, насколько далеко опухолевые клетки отходят от своей специализированной функции (степень дифференцировки), выполняемой в организме нормальными родительскими клетками (матрикс). Степень дифференцировки опухолевой клетки определяется на основании анализа самого зрелого представителя данной популяции клеток, например «жемчужины» или клеток, вырабатывающих меланин. Часто для этого даже не требуется микроскопа. Если опухоли молочной железы вырабатывают молоко, а опухоли коры надпочечника в организме самца крысы вырабатывают такое количество гормона, что это ведет к изменению поведения животного и к его феминизации, значит, опухолевые клетки еще сохраняют способность выполнять дифференцированные функции. Опухолевые клетки, которые делятся с особой быстротой, не имеют для этого времени. Они не успевают также вырабатывать продукты дифференцировки, например рог, меланин, молоко или гормоны. Такие клетки называются дедифференцированными. Не вызывает сомнения, что дедифференцированные опухолевые клетки являются особенно злокачественными из-за своей ярко выраженной способности к быстрому размножению. В трансплантированных опухолях этот процесс заходит столь далеко, что пересаженные раки полностью превращаются в саркомы.

Степень злокачественности в «жизни опухоли» не всегда остается постоянной. Она обладает способностью меняться и обычно возрастает. Вслед за непродолжительными ремиссиями, которые наблюдаются после лучевой терапии или химиотерапии, преимущественно размножаются особенно быстро растущие устойчивые клетки, что порой ведет к очень быстрой смерти хозяина-опухоленосителя. Они становятся еще более вирулентными. Поэтому политика «невмешательства» для многих форм опухолей на определенных стадиях болезни является даже терапевтической необходимостью. Это напоминает терапевтическую устойчивость многих бактериальных инфекций, особенно инфекций, вызываемых стафилококками. Асцитные опухоли у экспериментальных животных относятся к числу особенно злокачественных или вирулентных. При последовательной пересадке клеток саркомы Йошиды от крысы к крысе



Ф и г. 57.

удавалось настолько снизить число клеток, необходимое для фатального «заражения», что появлялась возможность убить крысу лишь одной такой клеткой.

Сравнение с инфекциями объясняется тем, что многие асцитные опухоли растут не только в организмах видов, в которых они возникают, но и в других видах и обладают способностью убивать новых хозяев. Таким образом, соматические клетки становятся паразитами, и им не хватает лишь собственных транспортных средств (для этой цели служит медицинский шприц для инъекций), чтобы возбудить новую инфекцию. В этой связи хорошим примером служит комар *Anopheles ascitica*, который может переносить такие опухолевые клетки от одного животного к другому. В эксперименте с помощью *Aedes aegyptii* удалось переносить саркому хомячков. Для этого потребовалось лишь обеспечить контакт комара с животным-опухоленосителем, а затем с нормальным животным (фиг. 57). В данном случае комар полностью заменил шприц для подкожных инъекций (Бэнфилд). Можно было бы возразить, что пере-

носятся не опухолевые клетки, а опухолевые вирусы, однако это возражение легко устранимо. В тех случаях, когда здоровым хомячком-реципиентом была самка и опухоленосителем — самец, у самки после укуса комара развивались опухоли с кариотипом самца. Если бы переносился вирус, а не клетки, то опухоли у самок должны были бы обладать женским кариотипом.

Следовательно, раковая клетка может в подлинном смысле этого слова проходить обратный путь развития от многоклеточного организма до одноклеточного паразита. Считать ли это высшей мерой дегенерации или регенерации — зависит от точки зрения исследователя.

1. Allison A., *Europ. J. Cancer*, **3**, 481 (1978 – 1968).
2. Ambrose E., *In The Biology of Cancer* (E. J. Ambrose and F. J. C. Roe, eds.), London, 1966.
3. Von Ardenne M., Die selektive Verstärkung einer primären Krebszellenschädigung als Fundamentalprozess der Krebs-Mehrschritt-Therapie, Turin lecture, 1969.
4. Bauer K. H., *Das Krebsproblem*, Berlin, 1963.
5. Bauer K. H., Ott G., *Materia Medica Nordmark*, Uetersen, 1965.
6. Beijerinck M. W., cited by G. Williams, *Virus Hunters*, New York, 1960.
7. Berenblum I., *Cancer Research Today*, Oxford, 1967.
8. Bierwisch M., cited by G. Schiwy, *Der französische Strukturalismus*, Hamburg, 1969.
9. Braun A. C., *Sci. Amer.*, **213**, (Nov. 1965).
10. Bullough W. S., *The Evolution of Differentiation*, London, 1967.
11. Burnet F. M., *Science*, **133**, 307 (1961).
12. Dulbecco R., *Sci. Amer.*, **216** (April 1967).
13. Druckrey H., *In Potential Carcinogenic Hazards from Drugs*, R. Truhaut, ed., Berlin, 1967.
14. Fletcher C. M., *Krebs-Dokumentation und Statistik*, G. Wagner, ed., Stuttgart, 1966.
15. Foulds L., *Cancer Res.*, **14**, 327 (1954).
16. Foulds L., cited by J. Leighton (см. [27]).
17. Foulds L., *Neoplastic Development*, Vol. 1, London, 1969.
18. Gaylord H. R., cited by E. D. Day, *Ann. Rev. Biochem.*, **549** (1962).
19. Habel K., *Cancer Res.*, **28**, 1825 (1968).
20. Hallion, cited by C. Oberling (см. [31]).
21. Van Helmont J. B., cited by W. Osler, *The Evolution of Modern Medicine*, New Haven, 1921.
22. Henschen F., *Gann*, **59**, 447 (1968).
23. Hieger I., *Carcinogenesis*, London, 1961.

24. Huxley J., *Biological Aspects of Cancer*, New York, 1960.
25. Kant I., *Metaphysische Anfangsgründe der Naturwissenschaft*, 1796, cited by H. E. Fierz-David, *Die Entwicklungsgeschichte der Chemie*, Basel, 1952.
26. Kissen D. M., *Ann. New York Acad. Sci.*, 164, Art: 2, 307 (1969).
27. Leighton J., *The Spread of Cancer*, New York, 1967.
28. Lettré H., *Universitas*, 21, 49 (1966).
29. McKinnel R. G. et al., *Science*, 165, 394 (1969).
30. Von Nagel A., *Fuchsin, Alizarin, Indigo*, Ludwigshafen.
31. Oberling C., *Krebs, das Rätsel seiner Entstehung*, Hamburg, 1959.
32. Potter V. R., *In Molecular Basis of Neoplasia*, M. D. Anderson Hospital, Austin, 1962.
33. Reid E., *Biochemical Approaches to Cancer*, Oxford, 1965.
34. Von Rezzori G., *Maghrebinische Geschichten*, Hamburg, 1958.
35. Schmähl D., *Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren*, Aulendorf, 1963.
36. Schmähl D., Thomas C., König K., *Z. Krebsforsch.*, 65, 342 (1963).
37. Schopenhauer A., *Philosophische Menschenkunde*, A. Bäuml, ed., Stuttgart, 1957.
38. Stewart S. E., *Sci. Amer.*, 203 (Nov. 1960).
39. Szent-Györgyi A., *Bioelectronics*, New York, 1968.
40. Taylor G. R., *The Doomsday Book*, London, 1970.
41. Thompson d'Arcy W., *On Growth and Form*, J. T. Bonner, ed., Cambridge, 1961.
42. Warburg O., *Molekulare Biologie des Malignen Wachstums*, H. Holzer and A. W. Holldorf, eds., 1966.
43. Warburg O., *Naturwissenschaften*, 42, 30 (1955).
44. Wightman W.P. D., *The Growth of Scientific Ideas*, New Haven, 1951.
45. Зильбер Л. А., *J. Nat. Cancer Inst.*, 26, 1311 (1961).

Литература, использованная для составления таблиц и иллюстраций

- Ambrose E. J., см. выше (фиг. 22).
- Anders F., *Experientia*, 23, 1 (1967) (фиг. 43 — 45).
- Bauer K. H., Ott G., *Materia Medica Nordmark*, Uetersen, 1965.
- Benjamin T. L., *J. Mol. Biol.*, 16, 359 (1966) (фиг. 42).
- Boyland E., *Aktuelle Probleme aus dem Gebiet der Cancerologie*, II, H. Lettré and G. Wagner, eds., Heidelberg, 1968.
- Bryan W. R., Shimkin M. B., *J. Nat. Cancer Inst.*, 3, 503 (1943) (фиг. 9).
- Daudel P., Daudel R., *Chemical Carcinogenesis and Molecular Biology*, New York, 1966 (фиг. 8; табл. 1, 2).

Druckrey H., см. выше. (фиг. 10, 11; табл. 3, 4).
Holley R. W., Kiernan J. A., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **60**, 300 (1968)
(фиг. 27).
Horne R. W., *Sci. Amer.*, **208** (Jan. 1963) (фиг. 38).
Robertson J. D., *Sci. Amer.*, **206** (April 1962) (фиг. 25).
Schramm G., *In Molekularbiologie*, T. Wieland and G. Pfeleiderer,
eds., Frankfurt, 1967 (фиг. 38).
Wagner G., *Grundlagen der Tumorgenese*, Ludwigshafen, 1968.
Warburg O., см. выше (фиг. 29).

Дополнительная литература

The Biology of Cancer, ed. by E. J. Ambrose and F. J. C. Roe, London,
1966.
Braun A. C., The Cancer Problem, New York, 1969.
Foulds F., Neoplastic Development, London, 1969.
Bauer K. H., Das Krebsproblem, Berlin, 1963.
Clayson D. B., Chemical Carcinogenesis, Boston, 1962.

Серии, в которых могут быть найдены обзорные статьи по более узким вопросам

Advances in Cancer Research, New York.
Methods in Cancer Research, New York.
Progress in Experimental Tumor Research, Basel.
Recent Results in Cancer Research, Berlin.
UICC-Monograph Series, Berlin.

Когда я впервые прочитал эту книгу именно так, как советуют авторы — во время отпуска и не подряд,— она показалась мне любопытной, местами просто увлекательной. Редактируя перевод, я читал ее еще не раз и, конечно, гораздо внимательнее. При чтении с карандашом в руках книга не потеряла для меня интереса, но стала казаться гораздо более глубокой и трудной. Временами я впадал в отчаяние, и было от чего! Если вы, например, читаете одну только главу об иммунологии, то авторы на весомом материале весьма авторитетно убеждают вас, что именно здесь «собака зарыта» — еще немного усилий и проблема станет ясна. Наконец-то появится возможность профилактики рака или, на худой конец, надежда лечить самое существо болезни, вмешиваться в интимные биологические процессы. Но вскоре оказывается, что открытые с такими усилиями закономерности не имеют универсального значения в канцерогенезе, что это всего лишь одна из научных догм, которая может быть если не опровергнута, то оспорена и с достаточными основаниями взята под сомнение. Остается ряд бесспорных фактов, пока описывающих отдельные фрагменты какого-то сложного процесса, но не раскрывающих природы явления во всей его сложности, а быть может, и в простоте. Но в этом и заключается главная мысль книги, в этом самая большая ее ценность. Она порождает мысли, гипотезы, привлекает диалектической противоречивостью суждений.

Недаром, написав три сотни страниц, посвященных фактам и теориям экспериментального канцерогенеза, авторы, нисколько не смущаясь, называют их догмами и вкладывают в это понятие несколько иронический смысл. Так, они пишут: «Научные предрассудки, по крайней мере в принципе, могут быть отброшены. Однако на деле они так же живучи, как и все другие заблуждения и предрассудки.

О многих из них даже сегодня мы не вправе с уверенностью сказать, что они оказались ошибочными: они просто несколько состарились и утратили былую привлекательность. «Старые солдаты не умирают, они постепенно сходят со сцены». И хотя накал страстей со временем ослабевает, нередко мы сожалеем об уходящем.

В современной науке бытуют свои вполне жизнеспособные, хотя по большей части и не высказанные предубеждения, если можно так выразиться — догмы в разменной монете для повседневного пользования. Многие из них снабжены этикеткой «очевидное», что не мешает время от времени смахивать с них пыль и задумываться над их достоверностью».

Ярким примером такого «стирания пыли» служит история полиэтиологической теории рака, сформулированной крупнейшим русским и советским онкологом Н. Н. Петровым около 60 лет назад. В переводе на биологический язык второй половины XX в. теорию Н. Н. Петрова вкратце можно сформулировать так: «Любое воздействие, индуцирующее трансформацию клеток, и отсутствие причин, препятствующих их размножению, могут в конечном итоге явиться причиной возникновения раковой опухоли».

Наиболее серьезными оппонентами этой теории были сторонники вирусной теории рака. Как только появились экспериментальные доказательства возможности трансформации клеток под влиянием вирусов, кстати весьма интересно описанные в этой книге, вирусная теория стала претендовать на универсальность. По аналогии с инфекционными заболеваниями представлялось увлекательным найти единственный вирус для каждой злокачественной опухоли, разработать методы специфической иммунизации... и с раком будет покончено. Авторы книги убедительно показывают, как по мере накопления фактов картина усложнялась. Уже после выхода в свет немецкого и английского изданий стали известны новые экспериментальные исследования, в частности советских ученых, казалось бы полностью подтверждающие исключительное значение вирусов в этиологии злокачественных опухолей. Так, коллективу экспериментаторов под руководством акад. Б. А. Лапина путем введения вирусов в определенных условиях удалось воспроизвести на обезьянах злокачественные заболевания крови, обладающие клиническими и морфологическими признаками аналогичного заболевания человека.

Анализируя на основании большого личного опыта и изучения обширной литературы современное состояние вирусной теории, Д. Б. Голубев замечает: «В настоящее время считается, что все нормальные клетки несут в себе онкогены онкорновирuсов. Поэтому приходится признать, что существуют какие-то другие факторы невирусной природы, которые воздействуют на клетку и способствуют... возникновению опухолей. Этими факторами могут быть: радиация, канцерогены и пр. Таким образом, в части онкорновирuсов вирусная теория фактически пришла к позициям полиэтиологической теории Н. Н. Петрова».

Настало время «стереть пыль».

Сейчас на универсальность претендует иммунологическая теория опухолей. В 1972 г. Ф. В. Баллюзек и В. И. Печерский писали: «Несомненным достоинством иммунологической концепции канцерогенеза является ее интегрирующее свойство по отношению ко всем прежним научным гипотезам, объясняющим закономерности злокачественного роста». Такое суждение родилось из стремления к обобщающей гипотезе. Зюсс, Кинцель и Скрибнер остроумно пишут: «...ни одна наука не обходится без поспешных суждений и даже предрассудков, и онкология не является исключением. Эта наука с ее широким кругом наблюдений, которые к тому же поразительно оторваны друг от друга, по существу более чем какая-либо другая нуждается в некоторой, пусть в чем-то основанной на предрассудках, но все же внушающей доверие гипотезе, чтобы проложить хотя бы едва заметную тропку в непроходимых джунглях фактов и представлений, которые сегодня кажутся нам несопоставимыми». Думаю, не случайно авторы этой книги, посвятив целую главу вопросам иммунологии, в дискуссионном разделе («Воображаемая беседа») уделяют вопросам иммунологии всего одну-полторы страницы.

Сегодня иммунологическая теория в онкологии доминирует. По числу приверженцев и количеству опытов, направленных на выяснение иммунологических подробностей, место иммунологии в науке исторически сопоставимо с теорией раздражения Вирхова. Акад. Р. Е. Кавецкий в интереснейшей статье (1975) писал: «...в настоящее время после классических работ Л. А. Зильбера, Г. И. Абелева, Мортонa, Кляйна и многих других никто не сомневается в антигенных отличиях опухолевой клетки от соответству-

ющей нормальной. Если имеются антигенные отличия, то должен появиться и иммунологический надзор в виде тех или иных гуморальных и клеточных реакций».

Посмотрим, что говорят об этом Зюсс, Кинцель и Скрибнер: «Вирхов в свое время полагал, что никто, даже под пыткой, не смог бы сказать, что же такое на самом деле раковая клетка. Но мы все-таки попытаемся дать предварительное определение: в самом простом случае клетка может считаться опухолевой, если она делится чаще, чем соседние клетки». Однако частое деление — еще не основание для организма считать клетку «чужой» и вмешиваться во внутриклеточные дела с помощью иммунных реакций. И далее авторы книги пишут: «Как полагают, система иммунной защиты хозяина начинает действовать лишь в том случае, когда опухолевые клетки уже имеются. Таким образом, это как бы регуляция *post factum* ... Никто не сомневается, что для того, чтобы понять, как возникают опухолевые клетки, необходимо изучать иммунные воздействия». Противоречие очевидно. А в другом месте авторы утверждают, что «иммунные эффекты не играют роли в истинном индуцировании опухолевых клеток, но могут повлиять на размножение уже имеющихся опухолевых клеток». Это противоречие они весьма осторожно обходят.

Между тем вопрос о том, что первично — опухолевый рост или иммунологическая реакция, имеет кардинальное значение для судеб онкологии. Если первична иммунодепрессия, то изучение иммунологии опухолей может способствовать решению проблемы и выработке мер профилактики. Если же дело обстоит наоборот, то констатация иммунологической несостоятельности онкологических больных и животных со злокачественными опухолями может иметь не большее значение, чем наличие лейкоцитоза и высокой РОЭ, которые характерны для воспалительных заболеваний, но не объясняют их сущности.

Имеется немало данных в защиту как одной, так и другой точки зрения. Попробуем вкратце их рассмотреть, исходя из последних работ, преимущественно советских ученых, поскольку их труды практически не нашли отражения в книге Зюсса, Кинцеля и Скрибнера.

Прежде всего необходимо выяснить, имеют ли клетки опухоли отличия, которые обеспечивали бы иммунологический ответ организма. В. С. Шапот (1975) пишет: «Иными словами, в неоплазме не обнаруживаются какие-либо осо-

бые специфические состояния, в которых не могут находиться нормальные клетки в тот или иной период существования популяции. Разница, однако, заключается в том, что в последнем случае эти состояния преходящи и сменяются другими состояниями в соответствии с влиянием контролирующих факторов, тогда как в пролиферирующей культуре опухолевых клеток способствующие их делению изменения в поверхностных мембранах как бы фиксированы до момента достижения ими очень высокой плотности популяции». Итак, коренных биохимических различий нет. Имеют место изменения мембран, способствующие безудержному размножению клеток. И еще: «Нельзя далее пройти мимо того факта, что ни в одном случае не удалось в раковых клетках найти какого-либо биохимически охарактеризованного специфического белка, фермента или новых ферментативных реакций, не свойственных нормальным клеткам в тот или иной период их онтогенетического развития. Оказалось, что в опухолях человека нет антигенов, которых нельзя было бы обнаружить в течение нормального эмбрионального развития его тканей. Не существует общего, свойственного всем злокачественным опухолям генетического дефекта в виде выпадения или, наоборот, появления нового продукта, кодируемого тем или иным геном».

Приведенные высказывания крупного советского исследователя в области биохимии рака позволяют считать, что уже трансформированная клетка почти лишена возможности приобрести *специфические* антигенные свойства. Вопрос о роли иммунологических механизмов в самом процессе трансформации здесь не затрагивается.

А. И. Агеенко (1969) писал: «Иммунологические изменения, происходящие в тканях при малигнизации, являются наиболее тонким отображением биохимических сдвигов в клетке». Итак, появление иммунологических изменений является *следствием*, а не *причиной* трансформации. В. В. Городилова, один из самых последовательных и убежденных пропагандистов изучения роли иммунологических процессов в канцерогенезе, в своей последней книге (1975) утверждает:

«1. Первичным является появление иммунологического дефицита, то есть нарушение иммунологической напряженности, вызванной злокачественной мутацией клетки, этиологическими факторами.

2. Вторичным является действие онкогенных факторов, которые вызывают бесконтрольный рост клеток, что приводит в организме к нарушению иммунологического контроля.

3. Онкогенные факторы являются причиной возникновения опухолей, но они вначале вызывают подавление иммунной защиты организма и только при этом условии возможна злокачественная пролиферация клеток.

Таким образом, судьба опухоли определяется силой и эффективностью иммунного ответа организма на опухолевый рост».

На первый взгляд точка зрения В. В. Городиловой отличается от высказанной выше, и создается впечатление, что иммунологический процесс определяет трансформацию клетки. Но более внимательный анализ позволяет прийти к выводу, что если имеет место «нарушение иммунологической напряженности, *вызванной злокачественной мутацией клетки*» (подчеркнуто мной. — Ю. Г.), то первичной является трансформация, а вторичной — иммунологическая реакция на нее.

Вероятно, правильнее всего было бы рассматривать этот вопрос так, как рассматривают канцерогенез в целом Зюсс, Кинцель и Скрибнер. Кстати, их точка зрения совпадает с мнением Р. Е. Кавецкого и многих других исследователей. Речь идет о трех этапах: трансформации (инициации, по Кавецкому), промоции (активации) и прогрессии.

Есть достаточно оснований полагать, что трансформация происходит не вследствие нарушений иммунологической защиты. Процесс активации изучен пока не столь детально, и в книге Зюсса с соавторами об этом сказано почти исчерпывающе. В клинике обычно приходится наблюдать больных с опухолями на этапе прогрессии. Прогрессия выражается либо в местнодеструктирующем росте, либо в метастазировании, либо в обеих формах одновременно. Поэтому все клинические исследования в области иммунологии опухолей не могут быть отнесены ни к этапу трансформации, ни к этапу активации, а только к этапу прогрессии.

Если подходить к иммунологической теории с *клинических позиций*, то ее сторонники (В. В. Городилова, В. И. Говалло, Ф. В. Баллюзек и др.) выдвигают следующие аргументы (цитирую по В. В. Городиловой):

«1. Спонтанная регрессия опухолей и метастазов, на-

блюдаемая в эксперименте и клинике. Например, спонтанная регрессия хорионэпителиомы, лимфогемоцитарных опухолей при явно недостаточном лечении (Л. А. Зильбер, Саутен, Хельстром и др.).

2. Увеличение числа опухолей у лиц, подвергавшихся иммунодепрессивной терапии по поводу пересадки органов.

3. В случаях заболеваний, связанных с недостаточностью иммунологических систем, также наблюдается увеличение числа злокачественных опухолей. Так, например, многие опухоли из групп лимфом чаще возникают у лиц, страдающих гипо- или агаммаглобулинемией, при которых иммуногенность организма снижается.

4. Опухоли часто возникают в органах и тканях, изолированных от воздействия иммунных механизмов организма (хрусталик глаза, мозг, щитовидная железа и т. д.).

5. Доказано, что к опухоли вырабатывается иммунологическая толерантность».

Представляет интерес рассмотреть эти аргументы с позиций врача-онколога, имеющего каждодневный опыт общения с онкологическими больными и знающего результаты клинических статистических исследований.

1. Спонтанная регрессия опухолей и метастазов не правило, а редчайшее исключение. Например, в Москве, где регистрируется ежегодно около 20 000 новых случаев заболевания злокачественными опухолями, больные со спонтанной регрессией наблюдаются *не каждый год!* Столь редкое явление не может служить основанием для *обобщений*.

2. Действительно, у лиц, подвергшихся иммунодепрессивной терапии, опухоли встречаются чаще, чем в популяции. В. В. Городилова приводит данные Таббера и др., которые при обследовании 3000 больных с пересаженной почкой через 2—4 месяца после операции выявили злокачественные опухоли у 49 человек. Аналогичные данные сообщают Хассо, Гутман и др., по мнению которых после иммунодепрессивной терапии в связи с пересадками опухоли возникают в 40 раз чаще, чем у лиц, не подвергавшихся таким воздействиям.

Казалось бы, доказательство объективное и убедительное. Но у этих больных почти в половине случаев (а по Табберу — еще чаще) возникают не раки, а опухоли соединительнотканного происхождения, которые обычно составляют не более 8% заболеваемости человека злокачествен-

ными опухолями. Кроме того, раки, возникшие или проявившиеся на фоне иммунодепрессии, *не проявили тенденции к быстрой прогрессии* и вполне успешно излечивались местными воздействиями. Как это понять, если считать иммунологический фактор ведущим в опухолевой прогрессии?

3. При заболеваниях, связанных с иммунологической недостаточностью, «срабатывает» то же правило, что и при пересадках: возникают опухоли неэпителиального происхождения. Поэтому данный факт ничего не объясняет в возникновении и прогрессии самых частых опухолей у человека — рака желудка, легкого, кожи, молочной железы.

4. Опухоли хрусталика глаза, мозга и щитовидной железы суммарно составляют небольшую часть опухолей у человека. Опухоли головного мозга встречаются у 4,7—8% больных злокачественными опухолями (П. Я. Огаезиев, 1974), рак щитовидной железы — у 1% (Ю. В. Фалилеев, 1974), а опухоли хрусталика настолько редки, что даже не упоминаются в справочнике по онкологии, изданном в 1974 г. Если отсутствие иммунологической защиты и в самом деле определяет возникновение и прогрессию опухолей, то поражение этих органов должно было бы занимать в статистике доминирующее место. Однако это не так.

5. В конце 1974 г. В. Я. Шац опубликовал обзор «Иммунологический паралич при опухолевом росте», где суммировал обширный и тщательно проанализированный научный материал по иммунологической толерантности за последние 10 лет. В этом обзоре приводятся такие слова: «...иммунологический паралич при опухолевом росте возможен, но его значение не следует переоценивать. Известными способами это состояние выявляется далеко не всегда... Если при всяком появлении в организме новой ткани с измененными антигенами к ней будет вырабатываться толерантность, то иммунологическое следящее устройство потеряет смысл, оно перестанет функционировать». И далее: «Иммунологический паралич возможное, но, видимо, не обязательное звено иммунологического ответа на опухоль». В обзоре приводится также фраза Александера, одного из адептов иммунологической теории: «Если толерантность не играет роли в процессах роста опухолей, то почему они растут?»

Итак, после стольких усилий задается такой беспомощ-

ный вопрос! Но Александер не одинок. Один из крупнейших советских исследователей канцерогенеза Ю. М. Васильев в 1974 г. недвусмысленно писал: «Вопрос о значении иммунных реакций в развитии и росте опухолей у человека остается неясным».

Но, как не раз бывало в медицинской науке, недостаточная убедительность и противоречивость теоретических суждений не мешают врачам попытаться применить открытые закономерности для спасения жизни больных. Именно так обстоит дело и с иммунологией опухолей. Уже многие годы иммунологические реакции пытаются использовать в диагностических целях, прежде всего для раннего распознавания рака (В. В. Городилова с сотр., Т. А. Коростелева и многие др.). Примененные тесты суммированы Р. Е. Кавецким и названы тестами реактивности, что, конечно, ближе к истине.

1. Гуморальные реакции:

канцеролитический коэффициент,
титр комплемента,
титр пропердина.

2. Пробы на проницаемость и поглонительную способность:

кожная проба с трипановой синью,
фагоцитарный индекс,
элиминация коллоидных красок из крови.

3. Кожные пробы в ответ на введение:

АЦС Богомольца,
динитрохлорбензола (ДНХБ),
опухолевого антигена,
туберкулина,
БЦЖ,
дифтерийного токсина,
препарата из кокцидий.

4. Определение аутофлоры кожи.

Легко видеть, что в этом обширном, но далеко не полном списке весьма мало специфических реакций на опухоли. Если взять перечень реакций, применявшихся авторами новейшей отечественной монографии «Теоретические и клинические аспекты иммунологии опухолей» (В. В. Городилова и др., декабрь 1975 г.), то сюда вошли:

изучение аутофлоры кожи и зева;
тесты фагоцитарной активности нейтрофилов;

кожные тесты с ДНХБ, туберкулином, БЦЖ;
тест торможения миграции лейкоцитов;
тест бласттрансформации;
кожные реакции замедленной гиперчувствительности с
экстрактом раковой опухоли и т. д.

Картина та же. И здесь речь идет об определении *общей неспецифической реактивности организма*, которая, несомненно, является важным фактором прогноза, и не только в онкологии, но и в медицине вообще. Еще 25 лет назад мы использовали реакцию замедленной гиперчувствительности и определение проницаемости капилляров для прогнозирования вспышек дремлющей инфекции при хирургических операциях. Т. А. Куницина, Е. И. Малюков, И. Теодореску и др. показали, что снижение общей иммунологической реактивности значительно повышает риск хирургического вмешательства. По свидетельству Т. А. Кунициной и Е. И. Малюкова (1975), пробу Клемпарской, общую бактерицидную активность сыворотки, фракционную РОЭ, фагоцитарную активность лейкоцитов, фагоцитарный индекс, проницаемость гистогенетического барьера вполне можно использовать в качестве прогностических тестов при гнойных осложнениях в послеоперационном периоде.

Эти и другие тесты позволяют получить суммарное представление о защитных силах организма и, следовательно, о *прогнозе*. Что же касается *диагноза*, то, как справедливо указывает В. В. Городилова, не исключено, что у человека имеются опухоли разной этиологии. В случае их вирусного происхождения, вероятно, будут возможны как иммунодиагностика, так и иммунотерапия.

По вопросу об иммунотерапии существуют непримиримые противоречия. Приведу две цитаты, которые иллюстрируют создавшееся положение. В 1973 г. В. И. Говалло с соавторами писал: «Ранее нами были представлены результаты иммунологического обследования больных со злокачественными опухолями. Было установлено, что при росте злокачественных опухолей отмечается резкое снижение показателей реакции бласттрансформации... и реакции спонтанного розеткообразования. Наряду с тем в реакции торможения миграции лейкоцитов лимфоциты больных оказывались иммунными к опухолевому антигену... а аутологичная сыворотка оказывала по отношению к лимфоцитам блокирующий эффект. Полученные данные послужили основанием для проведения иммунотерапии...»

В том же году Р. Е. Кавецкий утверждал: «Всякие попытки иммунизации или вакцинации опухолевых больных в разгар болезни обречены на неудачу — организм и так насыщен опухолевыми антигенами, а его реактивность угнетена. Надо сначала освободить организм от массы опухолевых клеток, восстановить собственный аппарат иммуногенеза, а затем уже пытаться его вакцинировать. Надо заботиться не только о противоопухолевой защите, но и о восстановлении реактивности организма».

Как же в таком случае относиться к несомненным фактам успеха иммунотерапии в отдельных группах больных? И вместе с тем имеется столько же, если не больше, неудач и даже случаев стимуляции роста в ходе иммунотерапии. Матэ, один из инициаторов иммунотерапии, писал: «Если иммунотерапия и разовьется в эффективный терапевтический метод, то пользоваться им, видимо, будет трудно...» Кроме того, имеет значение обстоятельство, связанное с одной из приведенных выше закономерностей. Попробуем перечислить злокачественные опухоли человека, при которых получен какой-то эффект от иммунотерапии. Это лейкоз, лимфома Бэркита, меланомы, саркомы, хорионэпителиомы.

Легко заметить, что все приведенные здесь формы злокачественных заболеваний не относятся к раку, особенно к раку желудка, легкого, кожи, составляющих основную массу заболеваемости¹. Любопытно, что в условиях иммунодепрессии у людей (см. выше) чаще всего развиваются злокачественные заболевания неэпителиальной природы, которые здесь оказались чувствительными к иммунотерапии. Об этом стоит подумать прежде всего в этиологическом плане. Но следует еще раз подчеркнуть трудность переноса в клинику закономерностей, установленных в эксперименте, поскольку основная масса экспериментальных опухолей не идентична спонтанному раку человека.

¹ Нам известно только одно исключение. В 1969 г. В. В. Городилова опубликовала результаты 10-летнего наблюдения над двумя группами больных (по 50 человек в каждой), страдавших раком молочной железы. Одна группа, помимо радикального комбинированного лечения, подверглась вакцинации. Выживаемость в вакцинированной группе оказалась почти вдвое выше. И хотя полученная разница статистически недостоверна, факт остается фактом, и он нуждается в дальнейшей проверке на большем числе наблюдений.

Я предвижу, что иммунологи неодобрительно отнесутся к этому послесловию, ибо в нем изложены некоторые общие закономерности и не отражен ряд весьма важных исследований и даже открытий в этой сложной области.

Однако вернемся к началу изложения вопроса об иммунологии опухолей. Как говорилось выше, современная иммунология претендует на положение интегрирующей науки, снимающей противоречия других теорий. Я же попытался лишь показать, что дело, вероятно, обстоит иначе, и пока всеобъемлющей и объясняющей все онкологические проблемы теории нет. Это отнюдь не значит, что следует отказаться от дальнейшего изучения иммунологии опухолей. Безусловно, их наряду с другими проблемами необходимо разработать. Подлежат изучению все системы поддержания внутренней среды организма, о которых не упоминают или почти не упоминают в своей книге Зюсс, Кинцель и Скрибнер: речь идет об эндокринной и нервной системах, а также о системе активной соединительной ткани. И. П. Терещенко с сотр. в последние годы убедительно показал тесную связь эндокринных нарушений с состоянием иммунологической защиты, а также с генетически обусловленной резистентностью и предрасположенностью к опухолевому росту у экспериментальных животных. В. С. Шапот исключительно удачно «перебросил мост» между биохимическими и генетическими исследованиями, во многом дополнив теорию прогрессии Фоулдса и заронив серьезные сомнения в справедливости мутационной теории канцерогенеза. Таких примеров в отечественной и мировой экспериментальной онкологии немало, они отражают объективное развитие этой науки и стимулируют новые поиски фактов. Вероятно, период синтеза знаний еще не наступил, что позволяет говорить об отсутствии универсальной теории, объясняющей канцерогенез.

Но наше утверждение отнюдь не должно порождать пессимизм. Наоборот! То, что мы уже сегодня знаем о раке, позволяет довольно эффективно с ним бороться. По словам Гая (1974), «применение современных методов профилактики может сохранить ежегодно около 150 000 жизней и снизить уровень смертности от рака почти вдвое».

Можно придерживаться различных точек зрения на канцерогенез, но доказано, что до 70% злокачественных опухолей человека индуцированы химическими канцерогенами. Значит, борьба против загрязнения окружающей

среды — реальнейшая профилактика рака, во всяком случае, многих его форм. По остроумному предположению Г. А. Белицкого, не исключено, что динозавры, исчезнувшие с лица Земли в последние 5 млн. лет мелового периода, погибли от пищевых отравлений. Как известно, в те времена низшие голосемянные растения, составлявшие пищу этих гигантов, уступили место высшим цветковым растениям, в которых содержится много алкалоидов. На протяжении 5 млн. лет динозавры не могли приспособиться к новым «химическим добавкам» к пище и в конечном итоге вымерли. Многие из той лавины химических соединений, которая повседневно обрушивается на людей, обладают непосредственным или отдаленным токсическим действием. Если человечество не хочет оказаться в положении динозавров, оно должно научиться определять и устранять токсические вещества.

Но этим наши возможности не ограничиваются. Мы сейчас твердо знаем, что при всей сложности этиологии и патогенеза опухолей, если рак распознать до того, как начнется метастазирование, в огромном большинстве случаев можно достигнуть полного выздоровления больного при любых сроках наблюдения. Доказано, что при раке шейки матки первой стадии одна только лучевая терапия, равно как и одна только операция, полностью излечивает 87,5% больных. При раке молочной железы операция на первой стадии болезни приводит к полному выздоровлению более 80% больных. Даже при раке желудка радикальное вмешательство при поражении только слизистой оболочки (истинная первая стадия) дает излечение около 90% больных. Так обстоит дело в клинике.

Поэтому проблема раннего, своевременного распознавания опухолей относится к числу практически не менее важных и на данном этапе более реальных, чем поиски этиопатогенетических методов лечения. Эти два вида исследований должны развиваться параллельно, и тогда удастся достигнуть результата, столь желанного для всего человечества, — снизить смертность от злокачественных опухолей. Не меньшее значение имеет и совершенствование методов лечения — уменьшение их опасности, повышение эффективности.

Что касается поисков возможностей использования данных теоретической онкологии для лечения рака, то в самое последнее время внимание исследователей все ча-

ще привлекает проблема изучения факторов антиканцерогенеза.

В книге Зюсса, Кинцеля и Скрибнера говорится о необратимости трансформации клеток. Это положение, как и многие другие, поколеблено дальнейшим развитием науки. В Советском Союзе поисками путей стимуляции обратного развития опухолевой клетки на основе анализа большого числа литературных данных занимались акад. А. И. Серебров и акад. Р. Е. Кавецкий. А. И. Серебров приводит, в частности, высказывания В. А. Парнес и И. А. Рапопорта.

По их мнению, исходя из гипотезы антиферментативного действия онкогенного вируса, опухолевый процесс в принципе можно прервать на любом этапе. Даже если клетка превратилась в злокачественную, но ее наследственный аппарат не пострадал, достаточно парализовать антиферментативное действие опухолеродного вируса и восстановить контроль над делением, чтобы клетка «выздоровела» и снова стала нормальной. В. Я. Шевлягин считает, что «если в основе превращения клетки из нормальной в опухолевую лежит включение генетического материала вируса в геном клетки, то вполне резонно предположить, что полная репрессия или удаление из клетки этой генетической информации вируса будет сопровождаться обратным превращением клетки в нормальную».

Р. Е. Кавецкий усматривает несколько принципиальных возможностей осуществления этой задачи. Они сводятся к следующему:

1) заменить в лейкозной клетке измененную РНК соответствующей нормальной;

2) при помощи РНК из соответствующих нормальных клеток, необходимых компонентов (предшественников) и вирусной обратной транскриптазы синтезировать «нормальный» ген и вводить его в злокачественную клетку для возвращения ей нормальных свойств;

3) попытаться применить воздействия, усиливающие дифференцировку клеток;

4) с помощью гормонов и ферментов попытаться нормализовать взаимодействия клеток между собой;

5) изучить возможность использования в качестве факторов антиканцерогенеза собственные защитные механизмы клетки, в частности интерферон или его индукторы;

6) применить воздействия, направленные на восстановление и поддержание иммунологического надзора.

Как видим, предложена широкая программа исследований. Кажущаяся ее «фантастичность» не должна обескураживать читателей, ибо немало идей в современной науке, прежде фантастических, затем давали вполне реальные результаты. К сожалению, сейчас вопросы о роли нарушений генетической информации, о значении вирусов и, тем более, об иммунологическом надзоре не могут считаться разрешенными. Схема, предложенная А. И. Серебровым и Р. Е. Кавецким, исходит не из аксиом, а из гипотез, но это не значит, что надо ожидать крушения всех догм и появления всех доказательств. Ясно, что онкологам надо еще много и напряженно работать в самых различных направлениях, постоянно памятуя, что конечной целью их исследований должно быть не удовлетворение научного любопытства, а победа человечества над «болезнью века» — злокачественными опухолями.

Борьба с раком сложна, она включает в себя не только теоретические, но и сугубо клинические и даже социальные задачи. Одни онкологи вряд ли в состоянии их решить. А потому позволю себе закончить послесловие к интересной книге Зюсса, Кинцеля и Скрибнера словами Гиппократов: «Жизнь коротка, путь искусства долог, удобный случай скоропроходящ, опыт обманчив, суждение трудно. Поэтому не только сам врач должен употреблять в дело все, что необходимо, но и больной, и окружающие, и все внешние обстоятельства должны способствовать врачу в его деятельности» (Гиппократ, Афоризмы, Отдел I,1).

Ю. Грицман

Предметный указатель

А

Агглютинация 142, 144
Адаптивные ферменты 241
Аденовирусы 196, 198, 203
Адено-12, 196, 198
Аденозин-3,5-монофосфат (АМФ) 262
Аденомы 322, 323
Адреналин 96, 107
Азокрасители 36, 37, 40, 42, 90, 278, 292
Азотистый иприт 253, 258
Акразин 261
Активация 75—78, 80, 81, 85, 86, 91—94, 96, 101, 235
Алкилирование 252
Алкилирующие агенты 254, 256
Амантадин 260
4-аминоазобензол (АБ) 43
о-Аминоазотолуол 42
Аминофлуорены 42
S - антигены 207, 208
Антилимфоцитарная сыворотка (АЛС) 174, 175, 177, 310
Антиметаболиты 254, 256
 Арабинозид цитозина 256
 6-меркаптопурин (6-МП) 254, 255
 Метотрексат 255, 256
 Фторурацил 256
Аргиназа 59, 61
АРОТ-антигены 207
Асбест 23
Аспарагиназа 256, 257
Асцитная опухоль Эрлиха 130

Асцитные опухоли 100, 101, 129, 132, 265, 327, 328
Афлатоксин 21, 22
2-ацетиламинофлуорен (ААФ) 42, 47, 60, 91, 98, 242, 244

Б

Базальные клетки 79, 108, 318, 321
Бактериофаги 205
1,2-бензантрацен 33, 35
Бензидин 40, 60
3,4-бензпирен (БП) 19, 28, 31—36, 65, 71, 74, 84, 89, 92, 170, 241, 269
Блокирующие факторы 176
Бронхиальные карциномы 306

В

Вирус Биттнера 192
— Гросса 294
— папилломы Шоупа 188, 194, 198, 216
— полиомы 133, 155, 198, 206, 213, 214, 216, 240, 241, 277, 292
— саркомы мышей 193
— саркомы Рауса 139, 187, 193, 198, 218, 294
—SV-40 139, 195, 198, 204—206, 211, 212, 214, 216, 278
— Сендай 212, 285
— табачной мозаики (ВТМ) 183, 198, 213
Вирусная ДНК 211—214, 240
Вирусные опухоли 30, 208
Вирусный онкогенез 208
Вируспецифические антигены 206—208, 215

Вирусы лейкозов 178, 218

Вторичная опухоль 329

Г

Генетическая конституция 225, 228, 231

Геном вируса 168, 206, 207, 213—215, 235, 260, 278

Гепатома Морриса 58, 154, 155, 258 — Новикова 258, 265

Гепатомы 22, 42, 55, 58, 65, 67—69, 83, 84, 96, 98, 102, 127, 153, 235, 239, 270, 292, 300

Гетерохроматизация 122, 123

Гибридизация нуклеиновых кислот 212

Гибриды-опухоленосители 226

Гидрокортизон 107

Гидроксирование 92

Гидролитические ферменты 259

Гиперплазия 76—80, 318, 321, 322

Гистоны 123

Гликогенолиз 261, 262

Гликолиз 147—151, 153—156, 257, 259

Глюкурониды 93

Горчичный газ (иприт) 77, 244, 252, 253

Д

ДДТ 22, 23

Дезактивация 93

Детоксикация 92—94, 101

1,2,5,6-дibenзантрацен (ДБА) 33, 34

Дизонтогенные опухоли 289

N, N-диметил-4-аминоазобензол (ДАБ) 42, 43, 50, 60, 65—67, 70, 71, 84, 89, 96, 102, 150, 235, 242, 271

Диметиламиностильбен 67, 70, 71

9-10-диметилантрацен 34

7, 12-диметилбензантрацен (ДМБА) 33, 34, 63, 74, 75, 80—84, 94, 243, 269

Диметилгидразин 21

Диметилнитрозамин (ДМН) 20, 21, 269

Дифениламин 40

Дифференцированные кератинообразующие клетки 108

Диэтилнитрозамин (ДЭНА) 67, 69, 70, 71, 83, 84, 122, 150, 231, 269

ДНК 37, 38, 59—62, 109, 123—126, 137, 140, 145, 150, 205, 208—210, 218, 222, 230, 236, 238—249, 254, 255, 279, 281, 313

ДНКазы лизосомные 125

ДНК-вирусы 167, 196, 198, 200, 208, 214, 218, 219, 242

Догма репрограммированной опухолевой клетки 279—281

Дремлющая (безмолвная) инфекция 205, 214

Е

Enhancement 180

З

Заживление ран 79, 106

И

Изоляция клеток 271, 274

Иммунизация активная 178, 179

— пассивная 178, 179, 310

Иммунная защита 98, 170, 177, 207, 208, 260

— система 98, 168, 175, 231, 274, 309, 310

Иммунодепрессанты 174, 175, 177, 310

Иммунодепрессивный эффект 256, 310

Иммунология опухолей 157, 158

Иммунотерапия 178, 180

Инбредный штамм 158, 169, 191, 203, 294

Инвазивный рост 95, 99, 312, 328

Ингибиторы 104, 106, 110, 138, 140—142, 256, 260, 261, 271, 272

— гуморальные 105
— тканеспецифические 110
Индекс Айболла 63, 243
— канцерогенности 64
Индукционные (ускоряющие) гены (ИГ) 228
Индукцирование опухолей 224—226, 230, 231, 235, 247, 260, 264, 270, 280, 286, 290
Инициация 75—77, 81, 85, 86, 96, 235
Интактные клетки 161, 170
Интактный вирус 213, 240
Интеркаляция 249
Интерферон 260
Информационная РНК 208—210, 211

К

Каменноугольная смола 28—31, 38, 78
Канцерогенез 74—78, 85, 89, 91, 92, 94, 96, 98, 101, 102, 104, 117, 121, 122, 126, 134, 151, 156, 175, 178, 215, 223, 231, 233, 235, 238—243, 245, 246, 249, 269, 273, 280, 297
Канцерогенная активность 232, 234, 269
Канцерогенные стимулы 232, 247, 292, 298
Карцинома кожи 102
— молочной железы 96, 102
— Уолкера 95, 123
Карциномы 74, 84, 95, 323—325
Кибернетическая модель тканеспецифической регуляции роста 104
Клеточные мембраны 89, 90, 93, 94, 112, 115, 119—121, 126, 127, 129, 134, 135, 137, 142, 144, 173, 207, 214, 251, 308
— органеллы 117, 119, 120, 124
Клеточный цикл 109
Коингибиторы 107
Коканцерогенез 77—79, 85
Колхицин 107, 108
Конверсия 80

Конканавалин А (Кон А) 142, 144
Контактное торможение 127, 133, 138, 140—142, 144
Кортизол 91
Кортизон 96, 174, 242
К-районы 35
Критическая масса колонии опухолевых клеток 134
Кротоновое масло 74—82, 85, 86, 91, 269
Культура ткани 200

Л

Лабелизация опухолевых клеток 257
Латентные вирусы 294, 297
— опухолевые клетки 235
— фаги 206
Латентный период 64, 66, 70—73, 81, 176, 200, 235, 292, 310
Лейкоз алейкемический 327
Лейкозы 27, 33, 83, 129, 184, 191, 194, 253, 327
— лимфоидные 185, 327
— миелоидные 185, 223, 327
Лизис клеток 201—206
Лизосомы 121, 124, 126, 259
Лимфома Бэркита 194
Лимфоматоз 186
Лимфомы 33, 257
Л-районы 35

М

Малигнизация 172
Маскированный вирус 189, 205, 206, 208, 211, 212, 219
Мезотелиома 23, 24
Меланома S-91 100
Меланомы 34, 113, 226, 228, 324
Мертвый вирус 212
Метаплазия ткани 320, 321
Метастазирование 99, 175, 328
Метастазы 94, 95, 100, 102, 129, 312
— спонтанные 178
N-метил-4-аминоазобензол 43

2-метил-ДАБ 89
3-метил-N, N-диметил-4-аминоазо-бензол 43, 242
Метилнитрозомочевина 245
3-метилхолантрен (МХ) 34, 38, 65, 74, 83, 84, 92, 94, 163, 176, 231, 233, 269, 276, 310
Митохондрин 121, 147, 149, 151, 154
Многоэтапная терапия 258, 259
Модель Жакоба — Моно 111
Мозаичная болезнь табака 182
Мутагенная активность 232, 234
Мутации 122, 224, 231—233, 235, 236, 249, 278, 305, 306, 308

Н

Нафталин 243
β-нафтиламин 19, 40, 42, 43, 45, 46, 53, 60
Нейробластомы 277, 326
Неопластический рост 97, 133, 217
Нервный фактор роста 114
Неспецифическая стимуляция иммунных механизмов 178
Нитрозамины 20, 21, 44, 92, 149, 271, 292
Нитрозометилмочевина 92
4-нитрохинолин-N-оксид 84, 85

О

N-оксиамины 60
N-окси-2-ацетиламинофлуорен (N-ОН-ААФ) 47, 48
N-оксиэфиры 51, 52
Онкогенные вирусы 125
Опухолевые вирусы 178, 182, 184, 192, 198, 203, 216—218, 234
— — симбиотические 294
— — скрытые 293
Опухолевые клетки 112, 121—129, 132—135, 139, 141—145, 152—155, 167—177, 180, 203, 208, 231—239, 247, 251, 252, 255, 257, 258, 265, 267, 271, 273, 281, 309
— — скрытые 75, 80, 82, 83, 86, 95, 96

Опухолевый ген 300
Опухолевый рост 174, 180, 181, 266
Опухолеспецифические антигены 163, 167—169, 172—174
Опухоли желудка 43
— кишечника 43
— кожи 43
— легкого 42, 43, 77, 198
— молочной железы 17, 42, 43
— мочевого пузыря 42, 43, 46
— надпочечника 191
— околоушной железы 191
— печени 42, 44, 58, 98
— тритонов 276, 277
— ушного прохода 67
— яичников 33, 274
VX-опухоль кролика 113
Опухоль Люка 194
Органотропия 91, 102

П

Папилломы 30, 63, 74, 76, 84—86, 91, 96, 270, 322, 323
Первичная карцинома печени 22, 27
Первичная опухоль 328
Пермеазы 90
Пигментный ген (ПГ) 228, 230
Пиперазин 21
Поверхностные антигены 215
Поли И/Ц (полиинозиновая-полицитидиловая кислота) 260, 261
Полиома 129, 130, 191, 192
Половые гормоны 97
Правило фаз канцерогенеза 94
Принцип латентной активности 253
Прогрессия 99
Продуктивный вирус 212
Продуцирование вируса 204, 205, 212, 213, 216, 260
Пролиферативный статус 250
Пролиферация 30, 40, 248
Промоция 75
β-пропиолактон 244

Р

Раздражение 76, 83, 248
Рак бронха 83
— гортани и пищевода 153
— железы ушного прохода 43
— желудка 14, 25, 26, 33
— кожи 27, 63, 77, 84
— легкого 14, 18, 19, 23, 24, 27, 33, 71, 231
— матки 42, 43
— молочной железы 25, 26, 33, 94—98, 161, 189—190, 192, 194
— мочевого пузыря 40, 93
— мошонки 28
— печени 20, 22, 27, 43, 66
— пищеварительного тракта 26
— половых органов 24, 25
— почки 127
— шейки матки 17, 24, 27, 95
Реактивация 93
Регрессия опухолей 256, 257, 260
Регенерация 12, 81, 105, 110, 271, 277
Регуляторные механизмы 274, 275, 312
— поля 114, 309, 311, 314
— системы 13, 87, 102
Регуляция роста 37, 58, 97, 103, 104, 114, 141, 173, 232, 233, 271, 272, 320
Рентгеновское облучение 149, 247, 248, 293, 294
Репаративная регенерация 320
Репликация 249
Репрессия 280, 282, 304
Репрессорные гены (РГ) 228, 230
РНК 59, 88, 89, 123, 150, 218, 238—243
РНК-вирусы 193, 194, 196, 218, 219, 242, 261
Ростовые гены 228

С

Саркома Иенсена 29
— Июшиды 265
Саркомы 192, 198, 272, 325, 326

Селекция клеток 267, 269, 270, 271
Сингенные опухолевые трансплантаты 168
Синканцерогенез 84, 85
Скипидар 79, 80
Скращивание видов 226
Соматическая клетка 122, 150, 151—153, 232, 233, 279, 280
Соматические мутации 233, 234
Спонтанные опухоли 286
Стационарные клетки 205
Стрессовые гормоны 96, 107
Суточный ритм 107

Т

Тени клеток 207
Теория канцерогенеза
— вирусная 236, 265, 286, 293, 296, 297
— волновая 36
— делений 264, 301, 302, 303, 308
— информационная 287
— кариогамная 284, 285
— мутационная 232, 234, 236, 265, 276, 304, 305
— полиэтиологическая 314
— раздражения 287—289, 298
— респираторная 147, 152, 264, 276, 287, 298, 302
— халонов 110, 111, 113, 303
— химическая 286
— хромосомная 180
— эмбриональная 289, 298, 299
Тератоканциномы 277
Тератомы табака 276
Тестостерон 98
Тиоацетанид 22
Тиомочевина 84
Тироксин 98
Тканеспецифическая регуляция роста 103
Токсикация 92

Транскрипция 217, 242
Трансляция 216
Трансплантационные антигены 207, 208
Трансплантация опухолей 161, 162, 168, 170, 275
Трансформация клеток 203—205, 207, 211, 213—218, 239, 247, 248, 267, 270, 271, 281
Трициклохиназолин 243

У

Уретан 76, 78, 84

Ф

Фактор молока Биттнера 189, 190, 194
Фактор слияния 212
Факторы роста 114, 138—140, 142
Феномен контактного торможения 203
Фибросаркомы 84, 163
Филадельфийская хромосома 180, 230
N, N-2,7-флуоренилдиацетамид 43

Х

Халоновые мутанты 112
Халон меланоцитный 114
— печеночный 272

— эпидермальный 107, 108
Халоны 103, 106—108, 110, 112—114, 138, 141, 230, 311
Химиотерапия 251, 252
Хлоролейкемия 113
Хлороформ 79
Холин 96
Хромосомные аномалии 223
Хромосомы 122, 123

Ц

Циклофосфамид (эндоксан) 253, 254
Цитотоксическое действие 175, 239, 271

Ч

В-частицы 194
С-частицы 193, 194, 219, 294
Частичная гепатэктомия 12, 106

Э

Эндоплазматический ретикулум 121
Эпидермальные опухоли 266
Эпидермальный рак 113
Эпоксиды 36
Эухроматин 122, 123

Я

Ядро 121, 122—124, 137

Содержание

ПРЕДИСЛОВИЕ	5
СОКРАЩЕНИЯ И ЧАСТО УПОТРЕБЛЯЕМЫЕ ТЕРМИНЫ	7
ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАК ЧАСТЬ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ	9
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАКА: БИОЛОГИЯ РЕГУ –	
ЛЯЦИИ РОСТА	12
ИМПУЛЬС ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАКА . .	14
ПЕРВЫЙ ШАГ: ИЗУЧЕНИЕ РАКА, ВЫЗЫВАЕМОГО КАМЕННОУГОЛЬ-	
НОЙ СМОЛОЙ	28
АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНЫ: АКТИВАЦИЯ ЧЕРЕЗ МЕТАБОЛИЗМ . .	39
БОЛЕЕ ВНИМАТЕЛЬНЫЙ ВЗГЛЯД НА ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕ-	
НЕЗ: КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ АСПЕКТЫ	62
МНОГОСТУПЕНЧАТАЯ ГИПОТЕЗА ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА	74
ФАКТОРЫ ХОЗЯИНА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ОПУХОЛИ	87
ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА («ХАЛОНЫ») . . .	103
КАНЦЕРОГЕНЕЗ И КЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ	117
МИТОХОНДРИИ И ТЕОРИЯ РАКА ВАРБУРГА	147
ИММУНОЛОГИЯ ОПУХОЛЕЙ: ОСНОВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДЛЯ ХО-	
ЗЯИНА ЗАЩИТЫ ОТ ОПУХОЛЕЙ	157
ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ОПУХОЛЕВЫХ ВИРУСОВ . . .	182
ОПУХОЛЕВЫЕ ДНК-ВИРУСЫ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ	200

ГЕНЕТИКА И РАК	221
ДНК И КАНЦЕРОГЕНЕЗ	238
НЕСКОЛЬКО МОДЕЛЕЙ ХИМОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ	251
ДОГМЫ ИНДУЦИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ	264
О ТЕОРИЯХ РАКА	284
ЗАКЛЮЧЕНИЕ: ПРОГРАММА ДЛЯ КОМПЬЮТЕРА	315
ПРИЛОЖЕНИЕ	318
ЛИТЕРАТУРА	335
ПОСЛЕСЛОВИЕ	338
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	353

ИБ№ 169



Р. Зюсс, В. Кинцель, Дж. Д. Скрибнер
РАК: ЭКСПЕРИМЕНТЫ И ГИПОТЕЗЫ

Редактор И. Хидекель
Художник Ф. Инфанте
Художественный редактор Ю. Урманчеев
Технический редактор Е. Потапенкова

Сдано в набор 24/V 1976 г.
Подписано к печати 24/I 1977 г.
Бумага офсет. № 1 $84 \times 108\frac{1}{32} = 5,63$ бум. л.
18,90 усл. печ. л.

Уч.-изд. л. 18,21. Изд. № 12/8551
Цена 1 р. 24 к. Зак. 494

Набор и верстка выполнены на фотонаборном автомате с применением автоматизированной системы правки и верстки «Союз» и ЭВМ «Минск-32».

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»

Москва, 1-й Рижский пер., 2

Ярославский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете Совета Министров СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 150014, Ярославль, ул. Свободы, 97

ИЗДАТЕЛЬСТВО · МИР ·

1р 24 коп.